

Histologische und experimentelle Untersuchungen
über die Oenocyten der Larve von
Sialis lutaria L.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Basel

von

Mariann Huber

aus

Krauchthal (Bern)

1957

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg

Genehmigt von der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
auf Antrag der
Herren Professoren:

R. Geigy

A. Portmann

Basel, den 17. Dezember 1957

W. Becker

Dekan

Sonderdruck aus
Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie
Bd. 48, (Schluß-)Heft 6, S. 661—697 (1958)
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg

Aus der Zoologischen Anstalt der Universität Basel

HISTOLOGISCHE UND EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER
DIE OENOCYTEN DER LARVE VON *SIALIS LUTARIA* L.

Von

MARIANN HUBER

Mit 35 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. April 1958)



Inhalt

Einleitung	661
Material und Methodik	663
A. Histologische und histochemische Untersuchungen	664
I. Histologie	664
1. Mitochondrien S. 665. — 2. Golgi-Apparat S. 666.	
II. Histochemie	670
1. Desoxyribonucleinsäure S. 670. — 2. Ribonucleinsäure S. 671. — 3. Lipide S. 671. — 4. Vitamin C S. 673. — 5. Harnsäure S. 673. — 6. Glykogen S. 673. — 7. Fermente S. 676.	
B. Experimenteller Teil	677
I. Tiere mit intakten Oenocyten	678
1. Fütterungsversuche S. 678. — 2. Injektion von fermenthemmenden Stoffen S. 679. — 3. Regulation des inneren Milieus S. 681.	
a) Glukoseinjektion S. 681. — b) Injektion von Glukosamin S. 683. — c) Reaktion der Oenocyten auf artfremde Implantate S. 685.	
II. Tiere nach Oenocytenkoagulation	685
1. Blutentnahmen S. 686. — 2. Histologische Kontrolle der Wirkung von Blutentnahmen auf die Oenocyten S. 688. — 3. Zusammenhang zwischen Oenocyten und Corpora allata S. 688. — 4. Metamorphose nach Oenocytenkoagulation S. 692.	
Diskussion der Resultate	694
Zusammenfassung	696
Literatur	696

Einleitung

Nachdem WIELOWIEJSKI (1886) bei einer Reihe von Dipteren, Hymenopteren, Lepidopteren und Coleopteren durch ihre Größe und meist gelbliche Färbung auffallende Zellen als *Oenocyten* beschrieben hatte, wurden diese in den folgenden Jahren praktisch für alle Insektenordnungen mit Ausnahme der Thysanuren nachgewiesen. Eine sehr eingehende, kritische Betrachtung der älteren Oenocytenliteratur ist bei KOCH (1944) zu finden. Später werden daher nur diejenigen Arbeiten genannt werden, die im Zusammenhang mit den eigenen Beobachtungen von Interesse sind.

OCHSÉ (1946a) untersuchte bei *Sialis lutaria* L. (*Megaloptera*) eingehend die Differenzierung der Oenocyten, ihr Wachstum, ihre Vermehrung und ihre histologischen Merkmale während Larvenstadien und Metamorphose. Aus einem eosinophilen, ektodermalen Zellkomplex mit 4 Kernen beidseits im Lateralwulst der ersten 7 Abdominalsegmente bei frischgeschlüpften Larven entwickeln sich während der ersten 3 Larvenstadien Gruppen von 10 bis 16 isolierten Zellen, die sich weiter zu Oenocyten ausdifferenzieren. Abb. 1 gibt einen Überblick über die Lage der Oenocyten im Abdomen der *Sialis*-Larve. Auffallend ist, daß im

Gegensatz zu den Oenocyten der ersten Larvenstadien diese Zellen im fertig ausgebildeten Zustand *keinen Nukleolus* mehr aufweisen. Sie erreichen im letzten Larvenstadium eine Größe von 80—150—(180) μ mit einem Kerndurchmesser von 40—70—(90) μ . OCHSÉ (1946 b) konnte zeigen, daß die fertig entwickelten Oenocyten von einer dünnen Schicht aus argyrophilem Bindegewebe umhüllt werden. Während der Larvenstadien wurden vom gleichen Autor in den Oenocyten von *Sialis* im Plasma oft Vakuolen beobachtet, die zuweilen den Kern deformierten. Ihr Auftreten konnte nicht in Zusammenhang mit den Larvenhäutungen gebracht werden. Dagegen ließen sich zwei mit der Metamorphose der Larve zur Puppe koordinierte Aktivitätsphasen der Oenocyten feststellen: eine erste, während welcher sich in

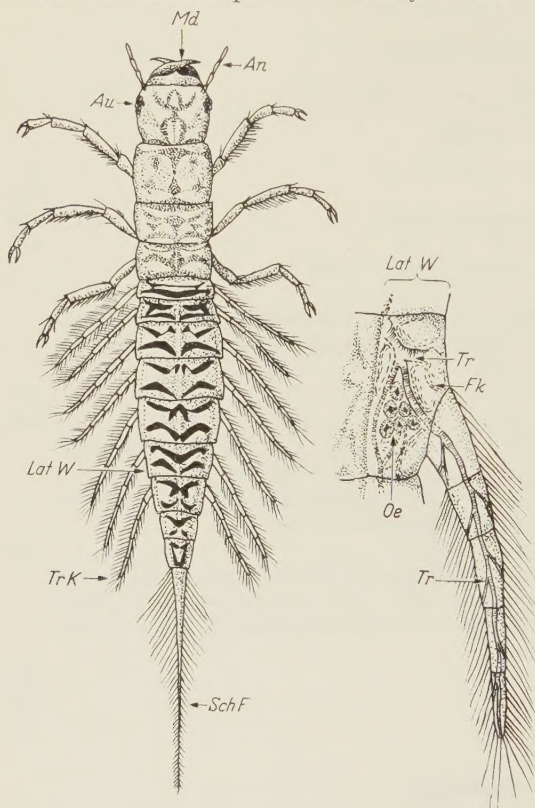


Abb. 1. Links Dorsalansicht einer reifen *Sialis*-Larve des 10. Stadiums; Länge 20 mm. Rechts sind Lateralwulst und Kieme eines Segmentes, von ventral gesehen, stärker vergrößert gezeichnet. Durch die Körperwandung durchscheinend sind Oenocyten, Tracheen und Fettkörper sichtbar¹

dermiszellen als Cuticulinschicht der Epicuticula abgelagert werden. Zu gleichen Ergebnissen kommen WOLFE (1954) bei *Calliphora erythrocephala* und KAISER (1950) beim großen Kohlweißling.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Untersuchungen von OCHSÉ weitergeführt. Es war zu prüfen, ob sich für die Oenocyten von *Sialis* die Annahmen

der Nähe des nun meist unregelmäßig geformten Kernes Vakuolen bilden, von dort nach außen wandern und sich unter die Kernmembran öffnen. In einer zweiten Phase tritt im Plasma eine stark basophile Substanz auf. Nach dem Schlüpfen der Puppe werden die Oenocyten inaktiv und beginnen kurz vor der Imaginalhäutung zu degenerieren, werden jedoch nicht ganz abgebaut. Eine zweite, imaginale Oenocyten-generation konnte von OCHSÉ nicht beobachtet werden. Oenocytentransplantationen aus zur Metamorphose bereiten Spenderlarven in ebenfalls kurz vor der Verwandlung stehende Empfängertiere brachten keine Antwort auf die Frage nach der Funktion der Oenocyten im Verlauf des Metamorphosegeschehens.

WIGGLESWORTH (1947, 1948, 1953), KRAMER und WIGGLESWORTH (1950) und DENNELL und MALEK (1954, 1955, I—IV) haben bei *Rhodnius prolixus*, *Tenebrio molitor* und *Periplaneta americana* nachweisen können, daß die Oenocyten an den Häutungs Vorgängen beteiligt sind und ihr Aktivitätsmaximum kurz vor der Ablagerung der neuen Epicuticula erreichen. Aus den Resultaten der histochemischen Versuche schließen diese Autoren, daß die Hauptaufgabe der Oenocyten darin bestehe, Lipoproteine zu bilden, die nachher von den Hypo-

¹ Legende der Abkürzungen in den Abbildungen: An Antenne; Au Auge; C Cuticula; Fk Fettkörper; G Golgi-Körper; Gl Glykogen; IE Indifferente Elektrode; K Kern; LatW Lateralwulst; M Mitochondrien; Md Mandibel; Oe Oenocythen; P Paraffin; SchF Schwanzfaden; SE Silberdrahtelektrode; Tr Trachee; TrK Tracheenkieme; V Vakuolen; VitC durch Vitamin C verursachte Niederschläge.

von WIGGLESWORTH ebenfalls bestätigen lassen. Dann sollte versucht werden, histologisch und experimentell die Aktivität der larvalen Oenocyten zu deuten, die sich nach OCHSÉ durch Vakuolenbildung manifestiert und in keinem Zusammenhang mit den Larvenhäutungen steht.

Alle Angaben über Entwicklung und Metamorphose von *Sialis lutaria* L., auf denen sich die Untersuchungen aufbauen, sind bei DuBOIS und GEIGY (1935), GEIGY (1937), GEIGY und OCHSÉ (1940), OCHSÉ (1944, 1946a, 1946b) und RAHM (1952) zu finden¹.

Material und Methodik

Die Larven von *Sialis lutaria* L. stammen teilweise aus dem Sempacher See von einem durch frühere Arbeiten bekannten Fundort. Da sich jedoch dort aus unbekannten Gründen eine stetige Abnahme der *Sialis*-Populationen zeigt, wurde der größte Teil der Versuchstiere aus dem Vierwaldstättersee (Horwer-Winkel) eingebracht. Einige ergänzende Fänge wurden im Elsaß, in der Gegend von Rosenau-Kembs gemacht. Wie schon bei OCHSÉ (1944) beschrieben, wurden die Tiere im Laboratorium sofort einzeln in Kristallisierschalen von 5 cm Durchmesser gebracht und, soweit nichts anderes angegeben wird, im Kühlschrank bei $+4$ bis $+6^{\circ}\text{C}$ gehalten und regelmäßig mit *Tubifex* gefüttert.

Für die histologische Auswertung bestimmte Versuchstiere wurden nach BOUTIN-DUBOSCQ fixiert, falls nicht andere Fixierungsmethoden notwendig waren. In den meisten Fällen wurden Paraffinschnitte hergestellt; einzig die Darstellung der Lipoide und des Golgi-Apparates nach BAKER (1949) erfolgte an Gelatine-Gefrierschnitten. Näheres hierüber findet sich in den betreffenden Abschnitten.

Alle Zeichnungen wurden nach Präparaten mit Hilfe eines Abbéschen Zeichnungsapparates angefertigt, die Mikrophotographien mit einer Wild-Einrichtung für Mikrophotographie aufgenommen.

Vor den Operationen wurden die *Sialis*-Larven in gesättigter, mit einigen Tropfen Essigsäure versetzter Natriumbikarbonat-Lösung während 1 min durch die freiwerdende CO_2 narkotisiert. Die Anwendung von CO_2 , von deren betäubender Wirkung bei Operationen an Landinsekten schon längere Zeit Gebrauch gemacht wird, bewährte sich auch bei *Sialis* ausgezeichnet. Die sehr nachteilige Verklebung der Kiemen, wie sie nach Äthernarkose zuweilen auftritt, konnte dadurch gänzlich vermieden werden.

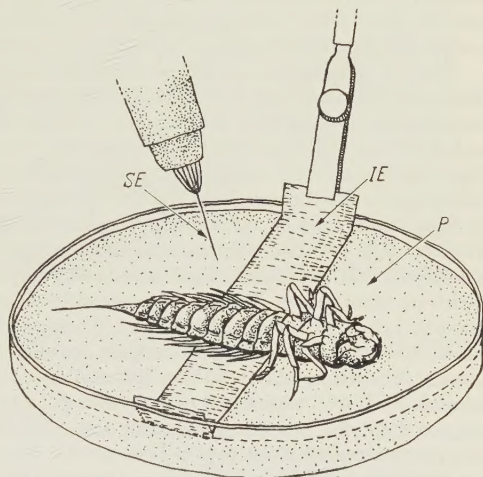


Abb. 2. Anordnung zur Koagulation der Oenocyten von der Ventralseite her

¹ Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. R. GEIGY, möchte ich auch an dieser Stelle für die Anregung zu dieser Arbeit und ihre Förderung und Leitung sowie für die großzügige Unterstützung bei der Beschaffung des Untersuchungsmaterials herzlich danken; ebenso Herrn Prof. Dr. A. PORTMANN, Vorsteher der Zoologischen Anstalt Basel, für das Interesse, das er diesen Untersuchungen stets entgegenbrachte. Weiter bin ich Herrn Prof. Dr. H. MISLIN, Mainz, zu Dank verpflichtet, der mir den „Dermopytor“ für die Oenocytenkoagulationen zur Verfügung stellte; Herrn Prof. Dr. E. HADORN, Zürich, der mir die unveröffentlichte Arbeit von KOCH (1944) freundlicherweise zur Einsichtnahme überließ; der Leitung der hydrobiologischen Station Kastanienbaum für die Ermöglichung der *Sialis*-Fänge im Vierwaldstättersee; endlich meiner Kollegin, Fräulein D. GROBE, für ihre Mithilfe beim Einbringen der Versuchstiere und Herrn Dr. E. ERNST für wertvolle Ratschläge bei der Aufnahme der Mikrophotographien.

Zur Koagulation der Oenocyten diene ein Hochfrequenzkoagulator des Types „Dermopytor“. Die narkotisierten *Sialis*-Larven wurden dazu mit der Dorsalseite nach unten über einem Bleiband als indifferenten Elektrode auf Paraffin gelegt (Abb. 2). Die Koagulation wurde mit einer Silberdraht-Elektrode von 0,1 mm Durchmesser auf der schwächsten Intensitätsstufe der Apparatur vorgenommen. Bei Binokularbeobachtung mit 40facher Vergrößerung sind die Oenocyten von außen gut sichtbar. Die Koagulationen konnten nicht unter Wasser durchgeführt werden, weil dabei die Stromverluste durch diffuse Ableitung zu groß waren. Ungefähr 3 sec dauernde Koagulationen an allen 14 Oenocytengruppen genügten, um durch die Epidermis hindurch den größten Teil dieser Zellen zu zerstören. Eine vollständige Koagulation aller Oenocyten war nicht möglich, weil dabei eine Beschädigung der Kiementrachee und damit der rasche Tod der Versuchstiere nicht zu vermeiden waren.

Bei den Injektionsversuchen erfolgten die Einspritzungen mit einer 0,5 cm³ fassenden Tuberkulinspritze und feinsten Glasnadeln am unnarkotisierten Tier in einer Intersegmentalmembran des Thorax. Die verschiedenen Stoffe wurden in einer Menge von 0,01 cm³ injiziert, was oft eine leichte, vorübergehende Blähung der Tiere zur Folge hatte. Doch ertrugen die Larven den Eingriff sehr gut; in keinem Falle zog dieser den Tod eines Versuchstieres nach sich.

Für die Papierchromatographie wurde die Hämolymphe mit Hilfe feinst ausgezogener Glaskapillaren und einer Tuberkulinspritze durch eine Intersegmentalmembran des Abdomens am unnarkotisierten Tier entnommen. Für jedes Tier wurde eine frische Nadel verwendet und diese vor jedem weiteren Versuch erst in 2n Salzsäure, dann in Wasser ausgekocht, in Aqua dest. sorgfältig ausgespült und getrocknet. Im Durchschnitt wurden die Kapillaren höchstens 2—3mal gebraucht. Um das Durchmischen der einzelnen Blutproben zu vermeiden, genügte das Wechseln der Nadeln, da diese von den kleinen Blutmengen nur teilweise gefüllt wurden. 0,01 cm³ der entnommenen Hämolymphe wurden auf Whatman-Papier No 1 aufgetrocknet und zweidimensional chromatographiert. Als Lösungsmittel wurden in der einen Richtung sekundäres Butanol-Ameisensäure-Wasser (75:15:10), in der zweiten im ersten Versuch primäres Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:5, organische Phase), später 70% n-Propanol verwendet. Nach dem Trocknen wurden die Papierchromatogramme mit Ninhydrin-Lösung (2% Ninhydrin in 95% n-Butanol und 5% 2n Essigsäure) besprüht und im Trockenschrank bei 100° C während 5 min entwickelt. Die Ninhydrin-positiven Stellen (Aminosäuren, niedrigere Peptide) wurden ausgezählt und die Durchschnittswerte der einzelnen Versuchsgruppen statistisch nach dem t-Test auf die Signifikanz der Unterschiede geprüft. Es seien die Formeln angeführt, nach denen ebenfalls bei der Untersuchung der Kerngrößen in den Corpora allata gerechnet wurde:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x' - \bar{x}')^2 - \frac{(\sum x' - \sum \bar{x}')^2}{n' + n'' - 2}}{n' + n'' - 2}}$$

$$t = \frac{|\bar{x}' - \bar{x}''|}{\sigma \cdot \sqrt{\frac{1}{n'} + \frac{1}{n''}}}$$

A. Histologische und histochemische Untersuchungen

I. Histologie

Abb. 3 gibt einen Überblick über Lage und Größenverhältnisse der Oenocyten die, wie erwähnt, bei *Sialis* beidseits im Lateralwulst der sieben kientragenden Abdominalsegmente in Gruppen von je 10—16 Zellen liegen. In der Abbildung, einem Querschnitt des Abdomens, sind in der Mitte Darm, Muskulatur, Fettkörper, Dorsalgefäß und Malpighische Gefäße getroffen, während auf jeder Seite im Lateralwulst eine Oenocytengruppe sichtbar ist. Im Vergleich etwa mit dem Fettkörper oder den Malpighischen Gefäßen fällt die außerordentliche Größe der Oenocyten auf.

OCHSÉ (1946a) hat Wachstum, allgemeine Morphologie und Histologie der Oenocyten von *Sialis* eingehend beschrieben. Deshalb wird hier nur über die

Darstellung der Mitochondrien und des Golgi-Apparates berichtet. Zur Vereinfachung der folgenden Ausführungen soll die Einteilung der Metamorphosephasen, wie sie OCHSÉ (1944, 1946 a) für *Sialis* eingeführt hat, kurz wiederholt werden.

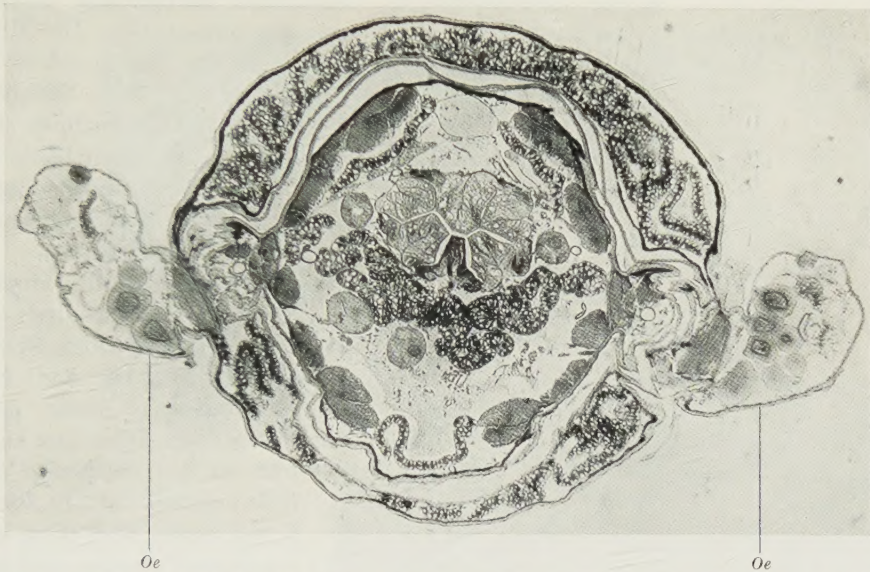


Abb. 3. Querschnitt durch das Abdomen einer *Sialis*-Larve des 9. Stadiums. Beidseits im Lateralwulst sind die Oenocyten (Pfeil) sichtbar. Vergr. 26 ×

Tabelle 1

Phase	Merkmale	Histologisches Bild der Oenocyten bei Hämatoxylin-Eosin-Färbung
A	Zweitjährige Larven kurz vor Metamorphosebeginn	Kern rund oder schwach gelappt. Plasma eventuell mit Zonen stärkerer Acidophilie
B	Kritische Periode, etwa 4 Tage vor Beginn der äußerlich sichtbaren Metamorphosevorgänge bis zu deren Beginn	Scharf umgrenzte, im histologischen Präparat leere Vakuolen im Plasma vom Kern nach der Peripherie rückend. Kern nicht deformiert
C	Bis zum Beginn der Retraktion des Kiemeninhaltes in der Kiemen spitze	
D	Retraktion des Kiemeninhaltes bis ins 3. Kiemensegment	Basophile Ausflockungen in der Nähe des Kernes. Kern diffus ins Plasma übergehend
E	Retraktion bis ins 2. Kiemensegment	
Pupale Umstimmung	Nur histologisch nachweisbar	Maximale Ausbildung der basophilen Plasmaeinschlüsse
F	Nach der pupalen Umstimmung; Abschluß der Retraktion des Kiemeninhaltes	Rasche Abnahme der basophilen Substanz im Plasma. Kern schwach gelappt, Plasma homogen

1. Mitochondrien. Diese wurden nach der Methode von REGAUD (ROMEIS, § 976 + 988) fixiert und gefärbt. In Präparaten verschiedener Larvenstadien beobachtet man in den Oenocyten kleinere und größere Granula in der Größen-

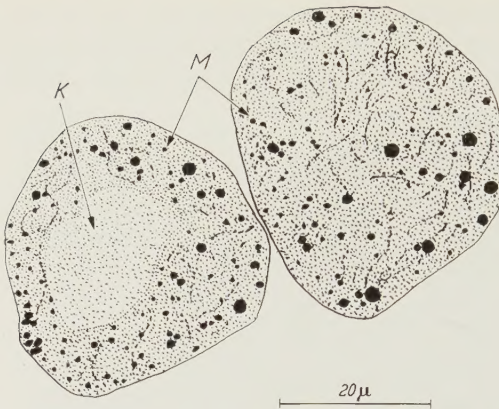


Abb. 4. Mitochondrienfärbung nach REGAUD. *Sialis*-Larve des 6. Stadiums

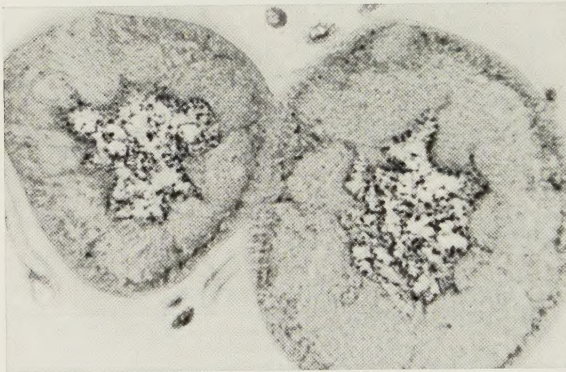


Abb. 5. Mitochondrien in Oenocyten einer *Sialis*-Larve in Metamorphosephase A. Die Mitochondrien sind peripher angesammelt; sie fehlen in der inneren, acidophilen Zone. Färbung nach REGAUD. Vergr. 410 ×

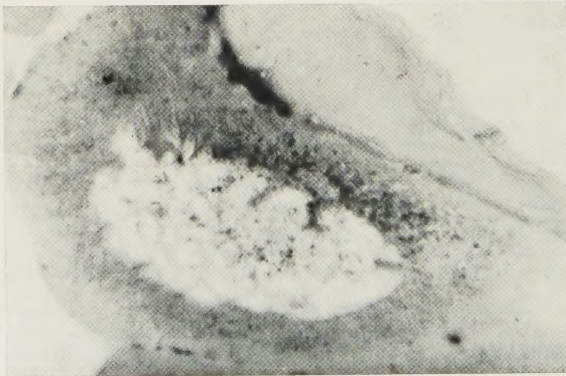


Abb. 6. Mitochondrien in Oenocyten der Metamorphosephase C. Färbung nach REGAUD. Vergr. 380 ×

ordnung von $0,5-2\mu$, die sich intensiv dunkel färben. Noch kleinere, dunkle Punkte sind manchmal fadenförmig hintereinander angeordnet. Die Mitochondrien sind meist diffus im Plasma verteilt; falls Vakuolen vorhanden sind, sammeln sie sich oft an deren Rand an (Abb. 4).

Die Abb. 5, 6 und 7 zeigen die Verhältnisse in verschiedenen Stadien der Metamorphose. In Phase A sind die stark acidophilen, von den Einbuchtungen des Kernes ausgehenden Zonen deutlich sichtbar und von Mitochondrien mehr oder weniger frei. Diese sind klein und an der Peripherie der Zelle angesammelt. In Phase C mit vielen, dem Kern anliegenden Vakuolen und besonders in Phase E sind die Mitochondrien in auffällender Dichte vorhanden. Ihr massives Auftreten in der Phase E dürfte im Zusammenhang stehen mit der maximalen Ausbildung der basophilen Plasmaeinschlüsse, wie sie gleichzeitig im gewöhnlichen Hämatoxylin-Eosin-Präparat nachzuweisen ist.

Abb. 8 zeigt eine Oenocyte eines Tieres nach dreimonatigem Hungern. In Präparaten solcher Hungertiere sind die Mitochondrien nur schwer zu differenzieren, weil sich hier das ganze Plasma mehr oder weniger intensiv basophil anfärbt.

2. Golgi-Apparat. Der Golgi-Apparat wurde so-

wohl nach der klassischen Imprägnationsmethode mit Osmiumtetroxyd (ROMEIS, § 1009, 1013), als auch nach BAKER (1949) mit Sudanschwarz dargestellt.

Im ersten Fall wurden isolierte *Sialis*-Abdomina längs aufgeschnitten und 24 Std im Gemisch nach CHAMPY bei Zimmertemperatur fixiert. Nach 24 Std fließend Wässern folgte eine 9tägige Osmierung in 1% OsO_4 bei 35° C. Darauf wurde wie üblich nach gründlichem Auswaschen der OsO_4 -Lösung möglichst rasch entwässert und über Methylbenzoat-Benzol

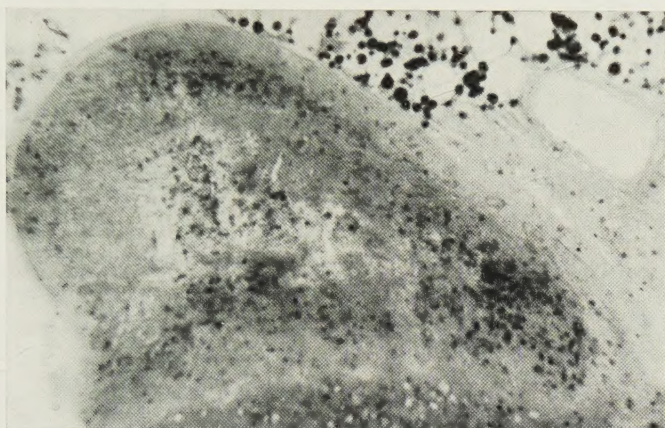


Abb. 7. Oenocyte der Metamorphosephase E mit sehr zahlreichen Mitochondrien. Färbung nach REGAUD. Vergr. 135 ×

im Vakuum in Paraffin eingebettet. Nach der Kernfärbung mit Safranin ließen sich die Präparate einzig in 1% alkoholischer Lichtgrün-Lösung erfolgreich differenzieren. Nach Champ-Fixierung allein ohne nachfolgende Osmiumimprägnation zeigen die Oenocyten keinerlei dunkel gefärbte Strukturen.

Ergebnisse der Osmiumimprägnationen

a) *Larvenstadien.* Die Serie der Abb. 9—12 von Oenocyten nach OsO_4 -Imprägnation ist einem Versuch mit Glukose-Injektion entnommen. In allen Präparaten sind im Plasma deutlich dunkel imprägnierte, 2—8 μ große, meist rundliche Strukturen, die Golgi-Körper, zu sehen. Oft sind sie gleichmäßig im Plasma verteilt, dann wieder an einer Stelle, vorzugsweise in Kernnähe, konzentriert. Es können auch mehrere Gruppen auftreten, die meist in Einbuchtungen des Kernes liegen. Sobald im Plasma Vakuolen vorhanden sind, ordnen sich die Golgi-Körper um diese herum an. Im experimentellen Teil der Arbeit wird gezeigt werden, daß diese Vakuolen am Kernrand, möglicherweise im Kern selber entstehen. Die Lokalisation der Golgi-Körper in unmittelbarer Kernnähe oder um die Vakuolen herum dürfte auf eine Beteiligung dieser Organellen an der Bildung des Vakuoleninhaltes hinweisen. Die Golgi-Körper variieren in ihrer Größe; doch hat sich dafür keine bestimmte Regel aufstellen lassen. Meist sind sie in Kernnähe oder

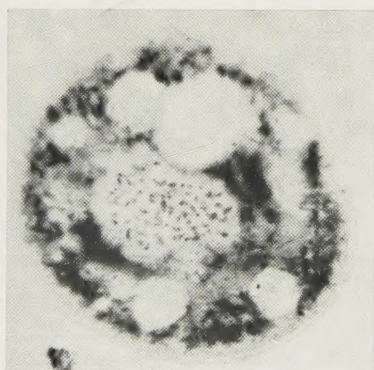


Abb. 8. Oenocyten einer *Sialis*-Larve des 6. Stadiums nach 3monatigem Hungern. Die Mitochondrien sind nur undeutlich zu sehen. Färbung nach REGAUD. Vergr. 475 ×

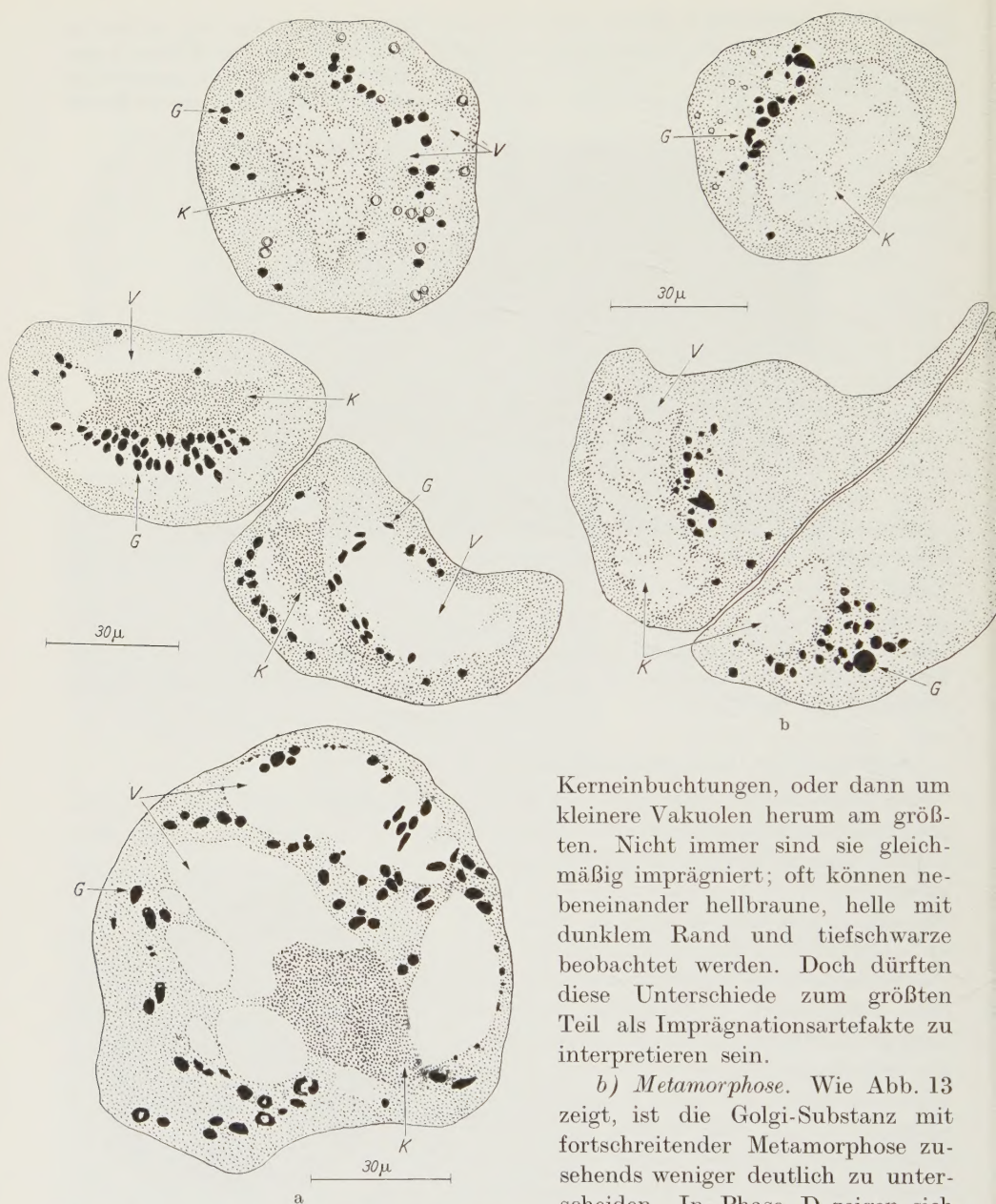


Abb. 9. (a) Golgi-Apparat 1 Std nach Glukoseinjektion; (b) Golgi-Apparat 2 Std nach Glukoseinjektion. *Sialis*-Larven des 8. und 9. Stadiums. Ansammlung der Golgi-Körper in Kernnähe und um die Vakuolen herum. Osmiumimpragnation

Kerneinbuchtungen, oder dann um kleinere Vakuolen herum am größten. Nicht immer sind sie gleichmäßig imprägniert; oft können nebeneinander hellbraune, helle mit dunklem Rand und tiefschwarze beobachtet werden. Doch dürften diese Unterschiede zum größten Teil als Imprägnationsartefakte zu interpretieren sein.

b) *Metamorphose*. Wie Abb. 13 zeigt, ist die Golgi-Substanz mit fortschreitender Metamorphose zusehends weniger deutlich zu unterscheiden. In Phase D zeigen sich in den Oenocyten oft noch winzige, dunkle Punkte, die von einer kleinen Vakuole umgeben sind. Ob es sich hier um ein wirkliches Ver-

schwinden des Golgi-Apparates im Zusammenhang mit dem allmählichen Degenerieren der Oenocyten oder lediglich um eine Veränderung der ihn aufbauenden Lipoidsubstanzen handelt, kann nicht entschieden werden.

c) *Hungertiere*. Hier können die Golgi-Körper relativ klein werden und oft, wie in gewissen Metamorphosephasen, von einer wenig größeren, im histologischen Präparat leeren Vakuole umgeben sein (Abb. 14).

Daß es sich bei den beschriebenen Strukturen wirklich um den sog. Golgi-Apparat handelt, dürfte dadurch bewiesen sein, daß sie wohl nach Champy-Fixierung mit nachfolgender Osmiumimprägnation, nicht aber nach einfacher Fixierung in Osmium-haltiger Lösung noch nach Färbung mit Lipoidfarbstoffen wie Sudan III oder Nilblausulfat sichtbar werden. PACHECO und CORDEIRO (1954) geben eine Abbildung der Golgi-Substanz in Oenocyten von *Drosophila simulans*.

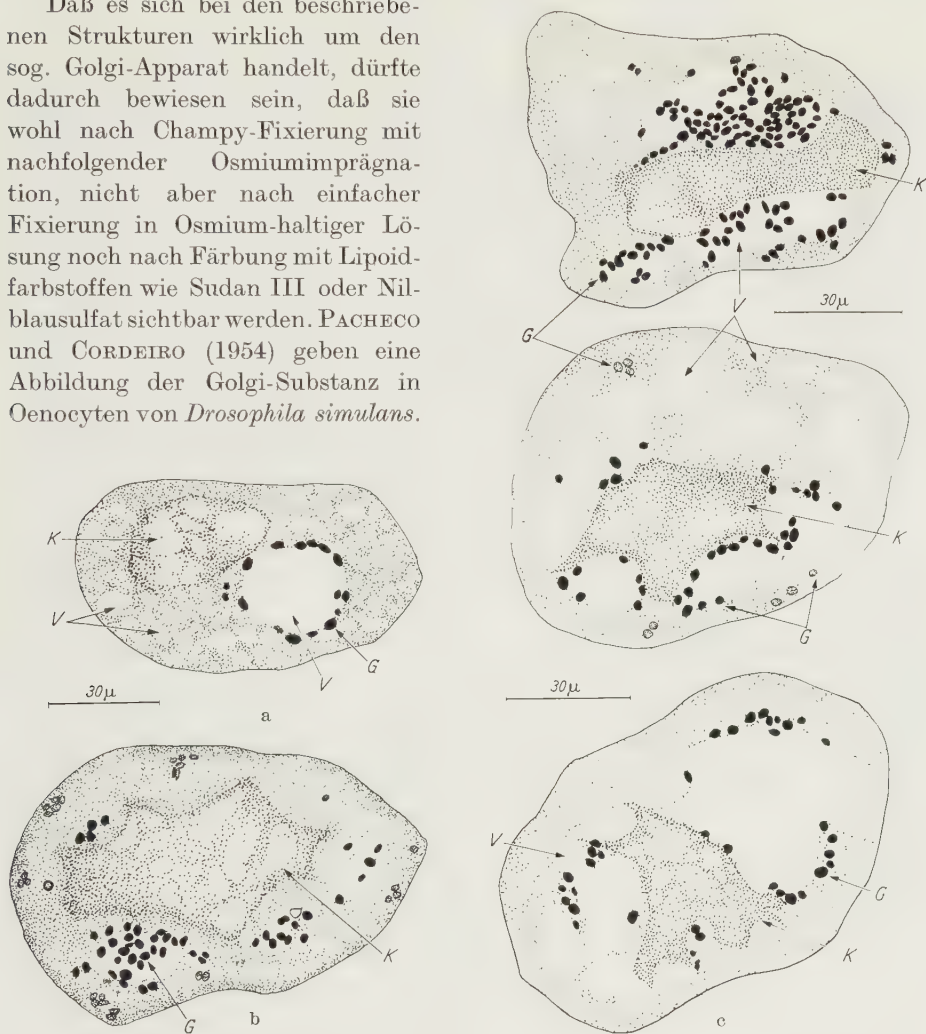


Abb. 10a–c. Golgi-Apparat in Oenocyten von *Sialis*-Larven des 8. und 9. Stadiums. Osmiumimprägnation. (a) 3 Std nach Glukoseinjektion, (b) 4 Std nach Glukoseinjektion, (c) 5 Std nach Glukoseinjektion

Nach der Cajalschen Methode mit Uranyl nitrat imprägnierte Präparate zeigen dort ebenfalls körnchenartige Strukturen, welche diffus im ganzen Plasma verteilt sind. Über ihre Anordnung bei Vakuolenbildung im Oenocytenplasma wird von diesen Autoren nichts ausgesagt.

BAKER (1949, 1950) stellt die Zuverlässigkeit der Imprägnationsmethoden für eine unverfälschte Darstellung des Golgi-Apparates in Frage. Er unterscheidet einfache und vakuolierte Golgi-Körper, die aus Lipoidmaterial aufgebaut sind. In der Vakuole soll Sekret gebildet werden. Die Bilder des Golgi-Apparates, wie sie z. B. in Darmzellen von Wirbeltieren mit den

Imprägnationsmethoden erhalten werden, sind nach BAKER als Artefakte zu beurteilen. Der Golgi-Apparat soll sich auch hier aus einzelnen, runden Gebilden zusammensetzen, während die netzartigen Strukturen durch mehr oder weniger intensive Osmiumanlagerung an die Lipoid-haltigen Golgi-Körper zustande kommen sollen.

Zur Kontrolle wurden auch bei *Sialis* einige Versuche nach der Originalmethode von BAKER (1949) durchgeführt. In diesen nach der Sudanschwarz-Technik gefärbten Schnitten läßt sich kein grundsätzlicher Unterschied gegenüber den Osmiumpräparaten feststellen. Der von BAKER beschriebene Aufbau

der Golgi-Körper aus lipoidhaltigem Externum, das eine Vakuole umgibt, ist oft deutlich sichtbar (Abb. 15).

Eine aktive Beteiligung des Golgi-Apparates an der Bildung von Sekreten wird heute nicht mehr bestritten (HIRSCH 1939, BAKER 1950). Die Ansammlung der Golgi-Körper in Kernnähe und um Vakuolen herum, wie sie in den Oenocyten von *Sialis* beobachtet werden kann, spricht einerseits für eine inkretorische Aktivität dieser Organellen, vor allem aber für eine Abgabe von Inkreten durch die Oenocyten selber.

II. Histochemie

1. Desoxyribonucleinsäure (DNS). Die Feulgensche Nuklealfärbung als Reaktion auf DNS wurde meist parallel mit einer Eisentrioxyhämatein-Färbung nach HANSEN (ROMEIS, § 681) ausgeführt: an Sagittalschnitten des Abdomens wurden die Oenocytengruppen der einen Seite nach FEULGEN, diejenigen der anderen nach HANSEN gefärbt. Fixiert wurde nach BOUIN-DUBOSCQ oder nach CARNOY;



Abb. 11. Golgi-Apparat in Oenocyten von unbehandelten Kontrolltieren des 8. und 9. Stadiums. In den beiden oberen Zellen sind die Golgi-Körper an einer Stelle in Kernnähe konzentriert, in der unteren Zelle gleichmäßig im Plasma verteilt. Osmiumimprägnation

für die Feulgenfärbung und die Herstellung des Schiffschen Reagens wurden die entsprechenden Vorschriften von GOMORI (1952) befolgt. Die gleichzeitige Durchführung von Feulgen- und Hämatoxylin-Färbung erlaubt eine scharfe Trennung der DNS, des eigentlichen Kernmaterials, in den Feulgenpräparaten von basophilen Plasmaproteinen, die sich mit Hämatoxylin anfärben. Der Kern ist immer deutlich Feulgen-positiv, die Verteilung der DNS jedoch sehr verschieden, entsprechend dem jeweiligen Zustand der Oenocyten im Moment der Fixierung. Es können Kerne beobachtet werden mit gleichmäßig verteiltem, fein gekörntem DNS-Material, solche, wo dieses stellenweise vakuolenartig aufgelockert ist, und sogar traubenförmig aus einzelnen Blasen sich aufbauende Kerne (Abb. 16). Wichtig wird die Feulgenfärbung bei den Metamorphose-Stadien D und E und nach gewissen experimentellen Eingriffen, wo granulös aufgelöstes Kernmaterial in das Plasma übergeht.

2. Ribonucleinsäure (DNS). Zum Nachweis diente hier die Methylgrün-Pyroninfärbung nach PAPPENHEIM-UNNA, wie sie von BRACHET (1940) eingeführt worden ist. Neben den Malpighischen Gefäßen färben sich vor allem die Oenocyten intensiv rot, was auf einen hohen Gehalt an RNS schließen läßt. Meist

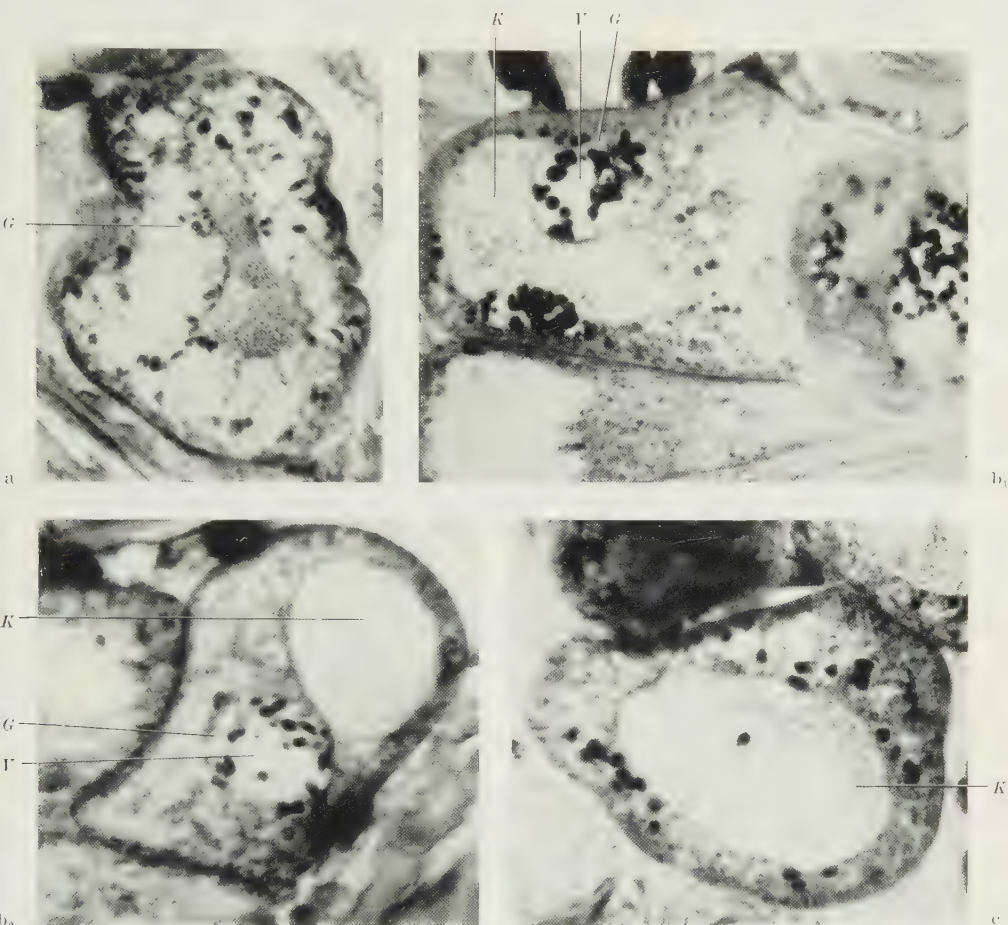


Abb. 12a—c. Golgi-Apparat in Oenocyten des 8. und 9. Stadiums. Osmiumimprägnation. (a) 1 Std nach Glukoseinjektion. Vergr. 540 $\times$, (b₁, b₂) 3 Std nach Glukoseinjektion. Vergr. 380 $\times$, (c) 5 Std nach Glukoseinjektion. Vergr. 380 $\times$

ist die Färbung im ganzen Plasmaraum gleichmäßig, oft aber am Kernrand oder um Vakuolen herum bedeutend intensiver. In einzelnen Präparaten ist das Plasma mit stärker angefärbten Schollen durchsetzt. Vorbehandlung der Präparate mit Ribonuklease, aus Rinderpankreas nach der Vorschrift von BRACHET (1940) dargestellt, läßt die Pyroninfärbung in den Oenocyten vollständig verschwinden; es handelt sich beim gefärbten Material also wirklich um RNS und nicht etwa um Mucopolysaccharide.

3. Lipide. Für alle Lipoidfärbungen wurde in Gelatine eingebettet und danach Gefrierschnitte hergestellt. Für Färbung mit Sudan III und Nilblausulfat

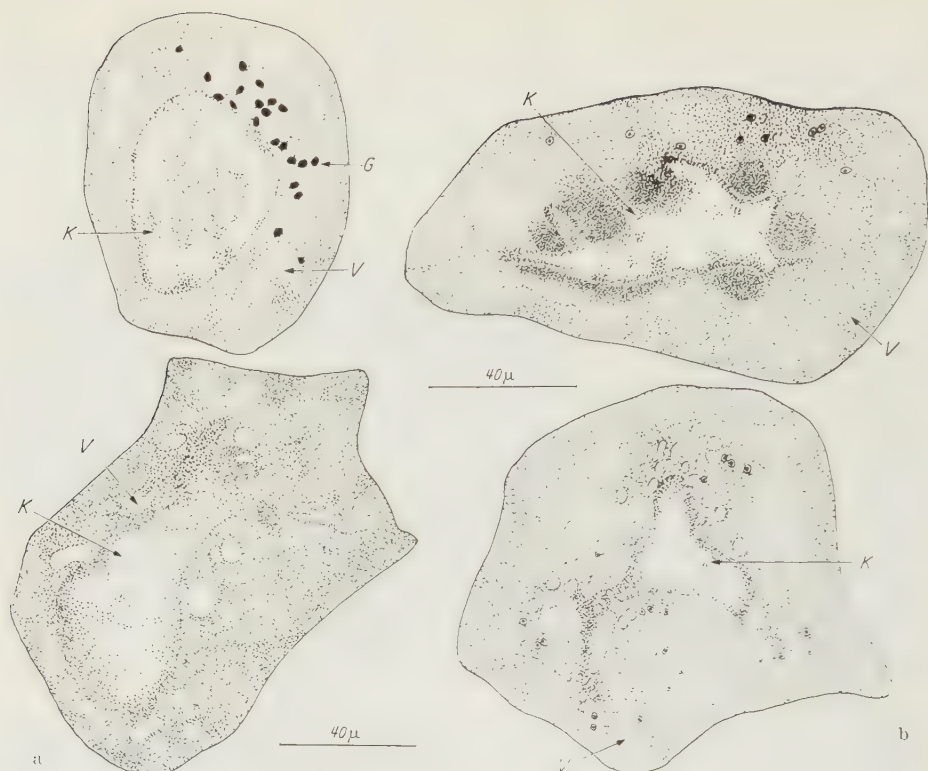


Abb. 13 a u. b. Golgi-Apparat in Oenocyten von Larven in Metamorphosephase C (a) und D (b). Osmiumimprägnation

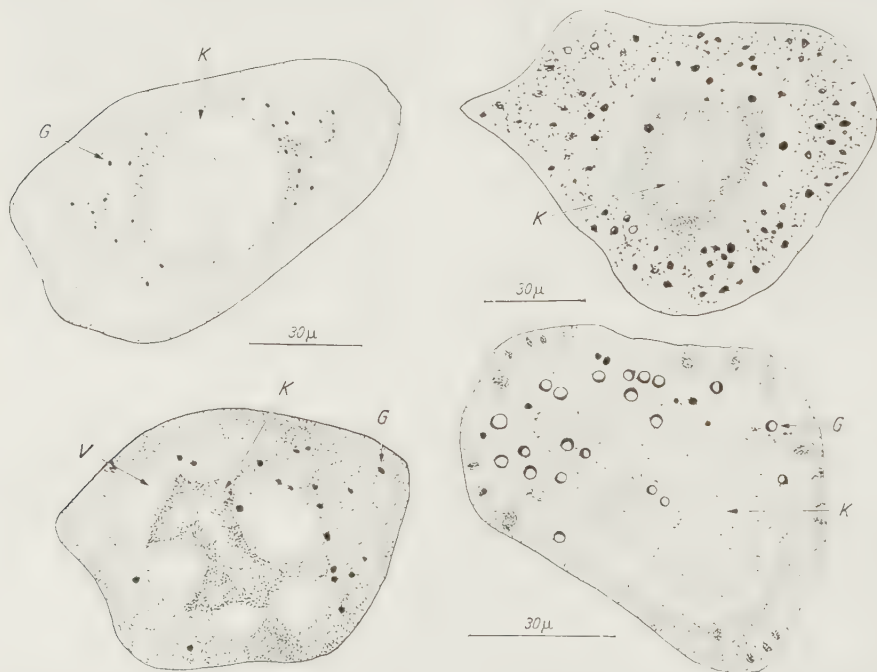


Abb. 14. Golgi-Apparat in Oenocyten einer Larve des 6. Stadiums nach 3 Monaten Hunger. Osmiumimprägnation

Abb. 15. Nach der Sudanschwarzmethode von BAKER (1949) dargestellter Golgi-Apparat in Oenocyten von Larven des 7. Stadiums

wurde mit 4% neutralem Formol fixiert; der Acid-haematein-Test wurde nach der Originalvorschrift von BAKER (1946) ausgeführt.

Sudan III ergibt nur eine sehr leichte, diffuse Färbung des Plasmas. Neutralfette dürften also nur in Spuren vorhanden sein.

Mit *Nilblausulfat* färben sich die Oenocyten intensiv blau an; sie enthalten somit saure Lipoidе. Eine auf Triglyceride hinweisende Rosafärbung tritt nicht auf. Diese Feststellung ist wichtig, weil Triglyceride sich mit der Sudanschwarztechnik nach BAKER neben dem Golgi-Apparat ebenfalls schwarz anfärben würden.

Beim *Acid-haematein-Test* ergeben sich feine Granula, in einzelnen Fällen weniger zahlreiche, größere Körner, die im Plasma gleichmäßig verteilt sind (Abb. 17a). Es handelt sich dabei wahrscheinlich um Phospholipide, da die Reaktion nach Pyridinextraktion der Gewebestücke negativ verläuft.

WIGGLESWORTH hat bei *Rhodnius* (1947) und *Tenebrio* (1948) eine deutliche Zunahme des Lipoidgehaltes nach Altmann-Fixierung (Osmiumgemisch, ähnlich demjenigen von CHAMPY) im Zusammenhang mit den Häutungen beobachten können. Daraus und aus Untersuchungen der Cuticula schließt er, daß bei diesen Tieren in den Oenocyten Lipoproteine gebildet werden, die nach Polyme-

risation und Beizung durch Chinone die basale Schicht der Epicuticula aufbauen. Bei *Sialis* haben sich im Zusammenhang mit den Larvenhäutungen keine Anhaltspunkte für eine derartige Funktion der Oenocyten gewinnen lassen. Schon OCHSÉ (1946) hat keine bestimmten funktionellen Stadien im Zusammenhang mit den Larvenhäutungen feststellen können. In Metamorphosephase E können nach der Färbung nach BAKER mit Sudanschwarz im Plasma große, dunkel gefärbte Schollen nachgewiesen werden, für die sich im Golgi-Präparat nach der Osmiummethode kein Äquivalent finden läßt (Abb. 17b). Die einfache Champy-Fixierung, die ja der von WIGGLESWORTH verwendeten Altmann-Methode weitgehend entspricht, verläuft dagegen auch in dieser Phase negativ. Da die Färbung nach BAKER auch für Triglyceride positiv ausfällt, weisen diese Ergebnisse bei *Sialis* ebenfalls auf eine Lipoidbildung der Oenocyten im Verlauf der Puppenhäutung hin (Abb. 17b).

4. Vitamin C. Die Reaktion nach GIROUD-LEBLOND (s. GOMORI 1952) verläuft schwach positiv: im Plasma zeigen sich gleichmäßig verteilte, dunkle Punkte (Abb. 18).

5. Harnsäure. Diese ist mit der Urotropin-Silber-Methode (nach GOMORI 1952) in den Oenocyten nicht nachweisbar. Stark positiv verläuft die Reaktion dagegen in den Malpighischen Gefäßen.

6. Glykogen. Das Vorkommen dieses Stoffes wurde nach der Technik von HOTCHKISS-McMANUS (nach GOMORI 1952) untersucht. Die Fixierung nach

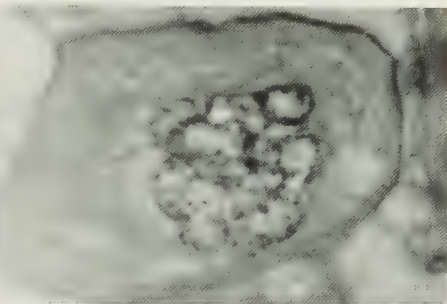


Abb. 16. Oenocyte einer *Sialis*-Larve des 9. Stadiums, die 1 Std nach Injektion von Glukose fixiert wurde. Das Chromatin ist deutlich um einzelne Kernblasen herum angeordnet. Feulgenfärbung. Vergr. 950 $\times$

DUBOSQ ergab die besten Bilder. Nach CARNOY machte sich der sog. Glykogenschwund meist stark bemerkbar. Nach Behandlung mit Diastase (Diastasepräparat oder Speichelttest) verlief die Reaktion stets negativ; ein positiver Ausfall der Reaktion zeigte also wirklich Glykogen an.

Glykogen wird fein verteilt oder in größeren Schollen im Plasma vorgefunden. Abb. 19 gibt zwei extreme Bilder; dazwischen können alle Übergänge beobachtet

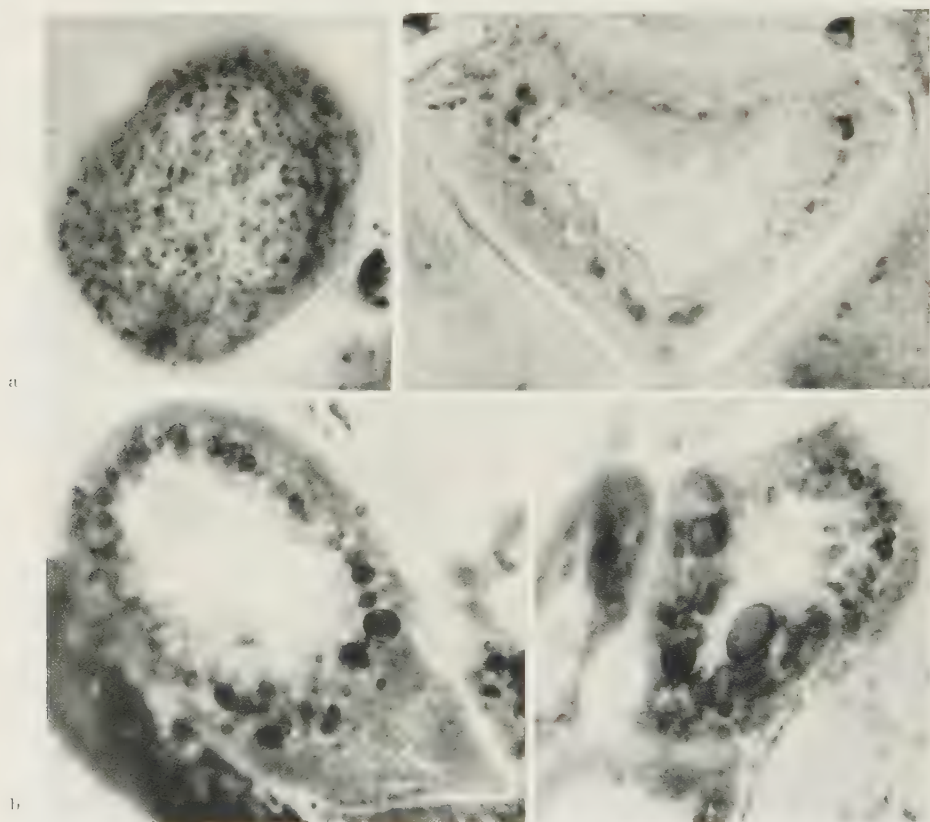


Abb. 17. (a) Oenocyten von Larven des 7. Stadiums. Acidhaematein-Test nach BAKER (1946). Die dunklen Granula stellen Phospholipide dar. Vergr. 655 $\times$. (b) Oenocyten von *Sialis*-Larven in Metamorphosephase E. Sudanschwarz-Färbung nach BAKER (Erklärung im Text). Vergr. 340 $\times$.

werden. Doch ließ sich kein Zusammenhang zwischen der Verteilungsart dieses Stoffes und bestimmten funktionellen Zuständen der Oenocyten erkennen.

Glykogen verschwindet auch nach längeren Hungerperioden (1—3 Monate) nicht vollständig aus den Oenocyten. Abb. 20 zeigt Oenocyten eines Tieres nach 3 Monaten Hunger: die dunklere Färbung der peripheren Plasmazonen ist durch eine positive Hotchkiss-Reaktion bedingt.

In Phase C der Metamorphose ist Glykogen ungleichmäßig in größeren und kleineren Schollen zwischen den Plasmavakuolen zu finden (Abb. 21). Typisch ist Phase D (Abb. 22), wo Glykogen sich in der zentralen Hälfte des Plasmaraumes intensiv anfärben läßt. Es kann homogen verteilt oder im peripheren Gebiet dieser Zone gehäuft sein und so einen Ring um den Kern herum bilden.

Der äußere Plasmaraum ist bis auf gelegentliche, feinste Hotchkiss-positive Körnelung vollkommen Glykogen-frei. Später löst sich regelmäßig diese scharf abgegrenzte Glykogenzone wieder mehr oder weniger auf. In einer letzten Phase (Abb. 23) ist im ziemlich homogenen Plasma nur noch wenig fein verteiltes Glykogen zu beobachten.

Möglicherweise wird Glykogen im Zusammenhang mit dem Aufbau der basophilen Plasmasubstanz (Metamorphosephasen D—E) verbraucht.

Die *Argentaffinitäts*-Reaktion, ausgeführt nach den Angaben von GOMORI (1952), verlief in den Oenocyten von *Sialis* negativ.

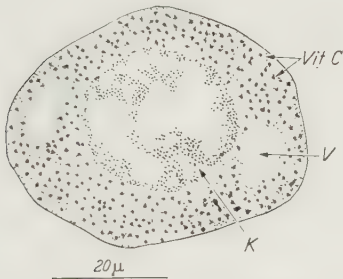


Abb. 18. Durch Vitamin C verursachte, feinste Niederschläge in einer Oenocyte (Reaktion nach GIROUD-LEBLOND). *Sialis*-Larve des 6. Stadiums

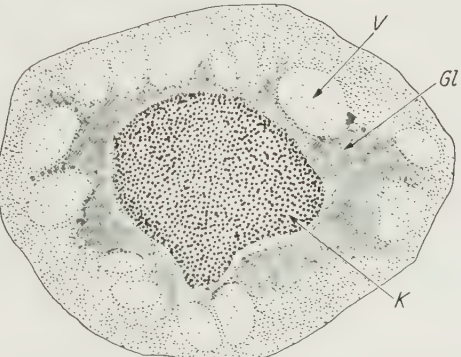


Abb. 19. Nachweis von Glykogen mit der Reaktion von HOTCHKISS-MCMANUS. Unbehandelte Larven des 6. und 7. Stadiums. Verschiedene Verteilungsarten des Glykogens

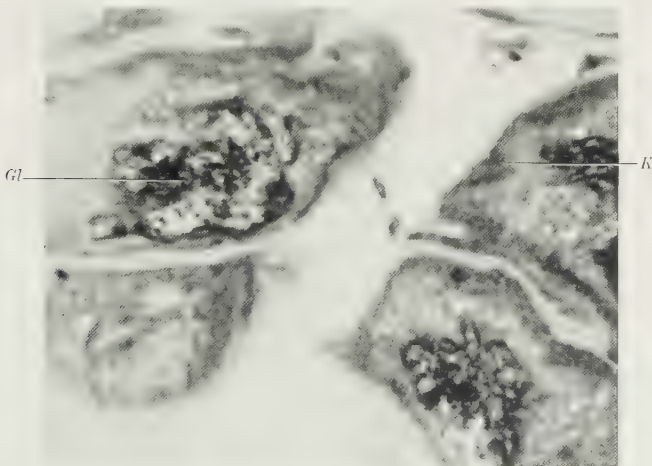


Abb. 20. Glykogen in Oenocyten einer Larve des 6. Stadiums nach 3 Monaten Hunger. Die dunkle Färbung des peripheren Plasmagebietes ist durch Glykogen in feinsten Verteilung bedingt. Reaktion nach HOTCHKISS-MCMANUS. Vergr. 320 ×

7. Fermente. *Alkalische* und *saure Phosphatase* lassen sich mit einer modifizierten Gomori-Methode (RICHTERICH 1952) nicht in Granula, sondern als leichte, dunkle Tönung von Plasma bzw. Kern nachweisen. Auch an frischen, unfixierten Zellen verlaufen beide Reaktionen nur schwach positiv. *Alkalische Phosphatase* trat im Plasma, *saure Phosphatase* dagegen eher im Gebiet des Kernes auf.

Succinoxydase ist bei Inkubation mit Na-succinat und Triphenyltetrazoliumchlorid (GOMORI 1952) nur sehr schwach nachweisbar.

Cytochromoxydase, geprüft nach der von GOMORI (1952) angegebenen Methode, war im Plasma unfixierter Oenocyten vorhanden.

Dopa-Oxydase, ebenfalls nach GOMORI (1952) untersucht, ergibt im Plasma unfixierter Oenocyten eine positive Reaktion.

Die Resultate dieser Fermentreaktionen sind wenig gesichert, da ihre Durchführung an den Oenocyten technisch sehr schwierig ist. Vor allem ist es unmöglich, ohne oder nach nur leichter Fixierung und ohne Gelatine-Einbettung GEFRIERSCHNITTE anzufertigen

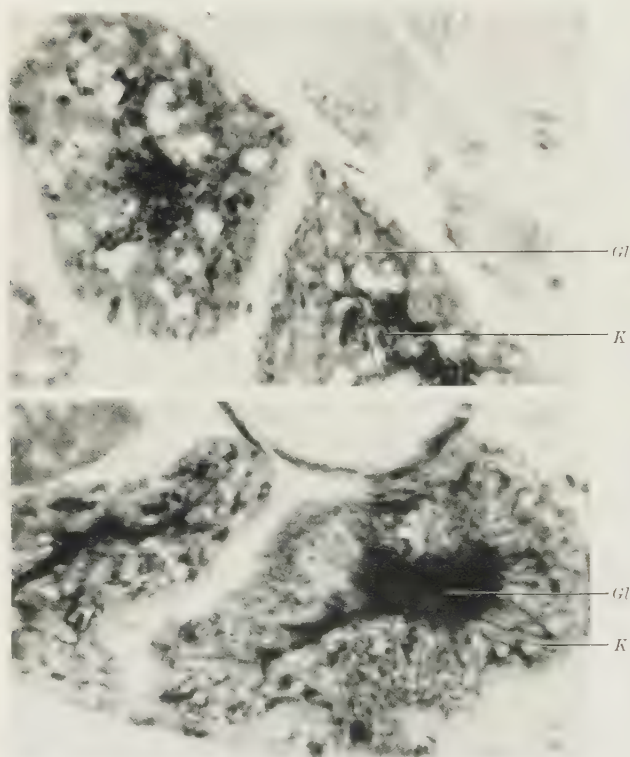


Abb. 21. Glykogen in Oenocyten von *Sialis*-Larven in Metamorphosephase C. Im Zentrum der verzweigte, schwarzkörnelige Kern. Außerhalb desselben gröbere und feinere, dunkle Glykogenschollen im Plasma. Reaktion nach HOTCHKISS-McMANUS. Vergr. 495 ×

oder, im Falle der Phosphatasen, nach raschester Paraffineinbettung gute Präparate zu erhalten, die eine genaue Lokalisation erlauben würden.

Diese histologischen und histochemischen Untersuchungen zeigen, daß eine Exkretspeicherfunktion, wie sie ältere Autoren, KOSCHEVNIKOV (1900), BERLESE (1899, 1902), ROESSIG (1904), WEISSENBERG (1906) für die Oenocyten annahmen, bei *Sialis* durch den negativen Verlauf des Harnsäurenachweises ausgeschlossen werden kann. Eine Bildung von Lipoiden im Zusammenhang mit den Larvenhäutungen ist unwahrscheinlich. Dagegen sind die Oenocyten, wie schon OCHSÉ gezeigt hat und wie erneut aus dem Verhalten des Glykogens während Bildung und Abbau des basophilen Materials und dem Auftreten eines Lipoidstoffes in Phase E hervorgeht, sicher an den Metamorphosevorgängen beteiligt. Das Vorhandensein von Golgi-Apparat, Mitochondrien, Fermenten wie Cytochrom- und Succinoxydase, Vitamin C und relativ großen Mengen Ribonuclein-

säure deutet auf eine mögliche, inkretorische Tätigkeit, jedenfalls auf eine intensive Stoffwechselaktivität dieser Zellen hin.

B. Experimenteller Teil

Neben den histologischen Untersuchungen wurde versucht, durch Experimente einen Einblick in die Funktionen der larvalen Oenocyten von *Sialis* zu gewinnen. In der Literatur finden sich nur wenige Angaben über experimentelle Arbeiten, welche im Hinblick auf die Oenocytenfunktion durchgeführt wurden. WIGGLESWORTH und KRAMER (1950) haben bei

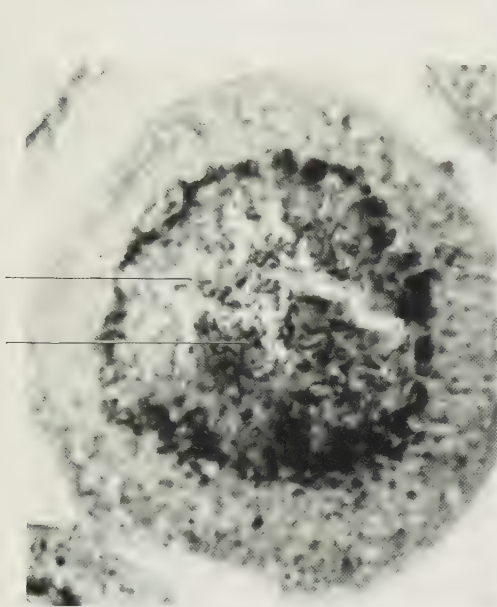


Abb. 22. Glykogen in Oenocyten von Larven in Metamorphosephase D. Glykogen in der zentralen Plasmazone um den Kern herum konzentriert. Reaktion nach HOTCHKISS-McMANUS. Vergr. 475×

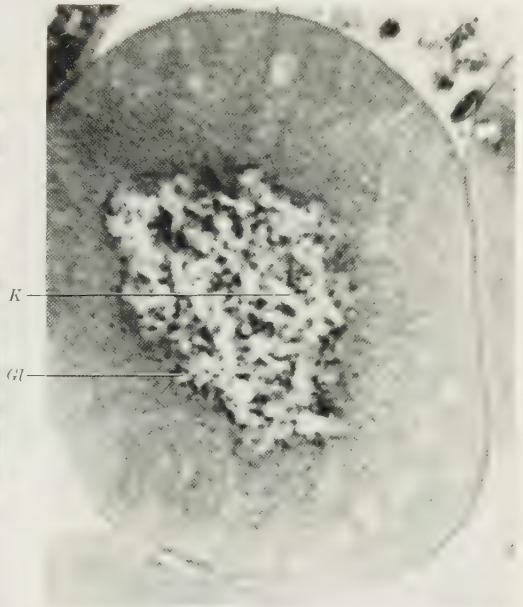


Abb. 23. Glykogennachweis nach HOTCHKISS-McMANUS in einer Oenocyte einer Larve in Metamorphosephase E. Nur noch sehr wenig, äußerst fein verteiltes Glykogen. Vergr. 750×

Periplaneta americana die Wachsschicht der Epicuticula durch Behandlung der Tiere mit Aluminiumpulver entfernt. In verschiedenen zeitlichen Abständen wurden die Tiere danach im Gemisch nach ALTMANN fixiert. Ihre histologische Kontrolle ergab, daß sich diese Wachsschicht der Epicuticula aus Lipoproteinen aufbaut, welche von den Oenocyten gebildet werden. Von OCHSÉ (1946) wurden, wie schon erwähnt, Transplantationen von Oenocyten ohne positiven Erfolg vorgenommen.

Arbeiten über experimentelle Ausschaltung der Oenocyten durch Zerstörung oder Exstirpation sind unseres Wissens bisher nicht durchgeführt worden. Gerade dafür eignet sich *Sialis* sehr gut wegen ihrer segmental im Lateralwulst angeordneten, streng umschriebenen Oenocytengruppen (Abb. 1), die von außen durch die Epidermis hindurch sichtbar und gut zugänglich sind.

Um eine mögliche Funktion der Oenocyten im Stoffwechsel, in der Regulation des inneren Milieus oder in den Metamorphosevorgängen abzuklären, wurden einerseits reine Ausschaltungsexperimente, andererseits an normalen Tieren mit intakten Oenocyten wie auch nach Oenocytenkoagulation die folgenden Versuche durchgeführt. Die verschiedenen Techniken sind im Kapitel „Material und Technik“ beschrieben worden.

Tabelle 2

	Tiere mit intakten Oenocyten	Tiere nach Oenocytenkoagulation
Stoffwechselfunktion und Regulation des inneren Milieus	Fütterungsversuche Hungerversuche Injektion von fermenthemmenden Stoffen Injektion von Glucose, Glucosamin, NaCl NaCl-Lösung als Reaktion auf artfremde Transplantate Blutentnahme, verbunden mit Chromatographie der Blutpro- ben zur Prüfung der Ninhydrin-positiven Blutkomponenten	Beziehung Oenocyten — Corpora allata Injektion von Glucose Badeflüssigkeit
Funktion während der Metamorphose		Metamorphose nach Oenocytenkoagulation

I. Tiere mit intakten Oenocyten

1. Fütterungs- und Hungerversuche. An *Sialis*-Larven verschiedener Stadien, die mindestens 10 Tage, in 2 Fällen 3 Wochen lang gehungert hatten, wurden Fütterungsversuche in folgender Weise durchgeführt: Die Tiere erhielten je einen mittelgroßen *Tubifex* zu fressen und wurden anschließend in bestimmten Zeitabständen, zwischen $1\frac{1}{2}$ und 24, zuweilen bis 40 Std nach der Fütterung fixiert. Nach $1\frac{1}{2}$ Std zeigten sich an den *Tubifex* im *Sialis*-Darm die ersten Anzeichen von Verdauung. Es wurden total 144 Versuchs- und Kontrolltiere verwendet und alle einzeln histologisch untersucht. Fixiert wurde nach BOUIN-DUBOSCQ oder CARNOY, gefärbt mit Trichrome-Masson. Eisentrioxyhämatein Hansen (zum Teil kombiniert mit der Hotchkiss-McManus-Reaktion für Polysaccharide), nach FEULGEN und BRACHET. Meistens kamen an einem einzelnen Tier zwei verschiedene Färbemethoden zur Anwendung. Hier wie in allen weiteren histologischen Kontrollen wurden folgende Kriterien für die Aktivität der Oenocyten berücksichtigt:

1. Form der Zellen,
2. Vakuolenbildung im Plasma, basophile Plasmaeinschlüsse, eventuell Glykogengehalt und Golgi-Apparat,
3. Veränderungen des Kernes: homogen, rund, mit Ausläufern oder diffusem Übergang ins Plasma, aufgelockertes Chromatin, Blasenbildung im Kern,
4. Veränderungen der Kern-Plasmarelation.

Sowohl bei Kontrollen wie bei gefütterten Tieren konnten alle oben erwähnten, auf eine Aktivität der Oenocyten hindeutenden Erscheinungsformen von Kern und Plasma gefunden werden. Kontrollen wie Versuchstiere wiesen sehr oft die schon von OCHSÉ beobachteten, in vielen Fällen den Kern deformierenden Vakuolen auf. Immerhin waren aktive Oenocyten bei Versuchstieren häufiger zu finden als bei Kontrollen. Es war nicht möglich, bestimmte histologische Bilder, d. h. bestimmte funktionelle Zustände der Oenocyten mit einzelnen Zeiten nach der Fütterung, also mit verschiedenen Phasen der Nahrungsresorption genau zu koordinieren.

Bei einjährigen *Sialis*-Larven zeigten die Oenocyten nach einmonatigem Hungern eine abnormal starke Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zugunsten des Kernes. Der Cytoplasmamantel der Zellen wurde sehr viel dünner. Gleichzeitig waren die Oenocyten in ihrem äußern Umriß meist stark deformiert, das Plasma nach außen gelappt und eingebuchtet. Der Kern war nicht selten pyknotisch (Abb. 24). Wie schon erwähnt, ließ sich auch in diesen Oenocyten noch Glykogen feststellen, wenn auch oft nur in geringen Mengen. Bei zweijährigen Larven konnten diese Erscheinungen nicht beobachtet werden. Bei reifen Larven des 10. Stadiums könnte dies im Zusammenhang stehen mit einer allgemeinen Drosselung des Stoffwechsels während der Diapause. Eine

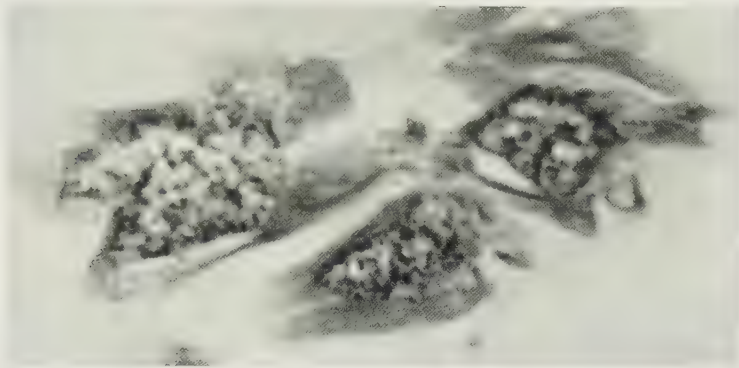


Abb. 24. Oenocyten einer *Sialis*-Larve des 6. Stadiums nach 1½ Monaten Hunger. Die Zellen sind stark deformiert, relativ großer Kern, Plasma in „Fetzen“. Feulgenfärbung. Vergr. 865 ×

Abgabe von Speicherstoffen beim Hungern durch die Oenocyten scheint nicht wahrscheinlich. Die in den Oenocyten gespeicherten Glykogenmengen sind im Vergleich zu den Glykogenvorräten des Fettkörpers so gering, daß eher angenommen werden kann, dieser Stoff werde im Eigenstoffwechsel der Oenocyten verbraucht und könne nicht mehr ersetzt werden. Fett läßt sich auch bei normalen Tieren in den Oenocyten nur in sehr geringen Mengen nachweisen und kommt ebenfalls nicht als Speicherstoff in Frage. Vielleicht darf die beobachtete Veränderung der Oenocyten im Sinne von ALBRO (1930) dahin gedeutet werden, daß die Oenocyten bestimmte Stoffe (Fermente?) abgeben, welche bei der Mobilisierung der Fettkörpervorräte mitwirken.

2. Injektion von fermenthemmenden Stoffen. Es wurden die folgenden Präparate in die Leibeshöhle injiziert:

Hydroxylamin als Hemmer des Tricarbonsäurezyklus in Konzentrationen von 100 γ , 250 γ , 500 γ und 1 mg/cm³;

Na-Azid, das die Koppelung zwischen Zellatmung und Phosphorylierung aufhebt, in Lösung von 100 γ /cm³;

Pilocarpin als Hemmer der Endoxydasen in Dosen von 2,5—5—10 mg/cm³.

Von den verschiedenen Lösungen wurde je 0,01 cm³ verabfolgt und nach 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36 Std von jeder Konzentration je 3 Larven nach CARNOY fixiert. Färbungen: Feulgen, Hansen-Eosin.

Aus den erhaltenen Resultaten läßt sich über die Funktion der Oenocyten wenig aussagen. Sehr bald, oft schon 1 Std nach Injektion, wurden die Kerne pyknotisch. Im Plasma trat viel basophiles Material auf, entweder in Schollen

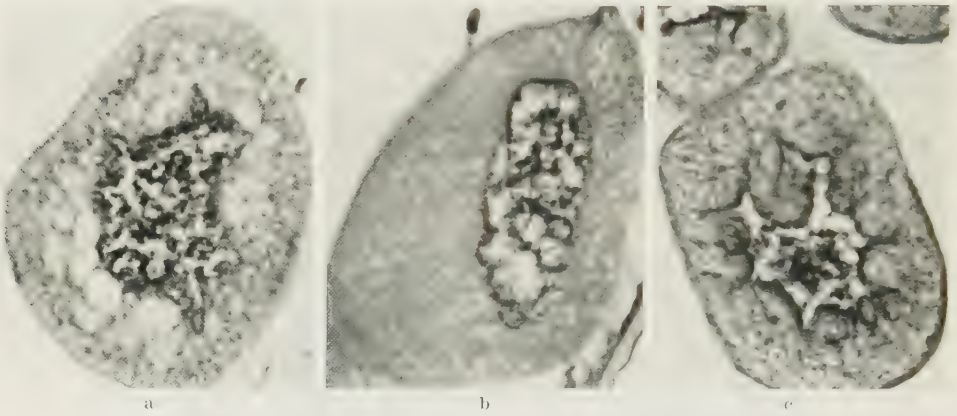


Abb. 25 a—c. Larven des 9. Stadiums. 1 Std (a), 4 Std (b) und 8 Std (c) nach Pilocarpininjektion 5 mg/cm^3 . Kernmaterial sehr dicht, dazwischen besonders in (b) blasige Auflockerungen. In (a) sind rechts feinste Sekretkanälchen sichtbar, (c) mit stark deformiertem Kern. Hansen-Eosin. Vergr. $405 \times$

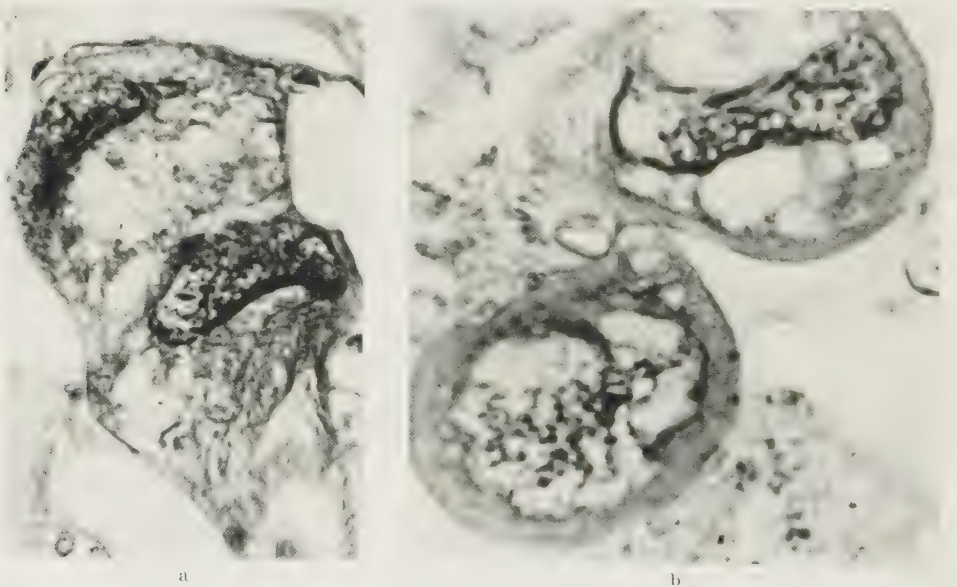


Abb. 26 a u. b. Larven des 9. Stadiums. 1 Std (a) und 24 Std (b) nach Hydroxylamininjektion $500 \text{ } \mu\text{g/cm}^3$. Chromatin dicht, (b) mit deutlich pyknotischem Kern. (a) mit großen Plasmavakuolen. Plasma immer basophil; in (b) Auflösung der Zellgrenzen, Plasmamaterial netzartig angeordnet. Hansen-Eosin. Vergr. $340 \times$

oder feineren Granula oder dann in netzartiger Anordnung. Auffallend waren vor allem bei Hydroxylamin und Pilocarpin die ebenso rasch auftretenden, als „Sekretgänge“ zu interpretierenden feinsten Kanälchen im periphersten Teil des Plasmas.

Da durch die Hämolymphe die injizierten Stoffwechselgifte im ganzen Körper verteilt werden, erfolgt die Degeneration der Oenocyten mit Kernpyknose ziem-

lich sicher als Reaktion auf eine allgemeine Stoffwechselblockierung. Doch können die Erscheinungen wenigstens zum Teil auch auf Hemmungen des zell-eigenen Stoffwechsels zurückgeführt werden, was dann auf die Anwesenheit von Atmungsfermenten des Cytochromsystems und von Enzymen des Kohlenhydrat-Metabolismus in den Oenocyten schließen läßt. Für eine intensive, oxydative Tätigkeit der Oenocyten spricht ja auch ihre starke Tracheenversorgung, und der Nachweis von Glykogen läßt das Vorkommen von Fermenten des Kohlenhydratstoffwechsels erwarten. Die zahlreichen Mitochondrien, in welchen die Fermente der biologischen Oxydation, vor allem der Cytochromsysteme, die gelben Fermente und das Enzymsystem des Zitronensäurezyklus lokalisiert sind, lassen sich ebenfalls zu diesen Befunden in Beziehung bringen.

Die Abb. 25 und 26 geben einige Bilder aus dieser Versuchsreihe.

3. Regulation des inneren Milieus. a) *Injektion von Glucose.* In weiteren Experimenten wurde zweijährigen Larven (erstjährige Tiere waren für diese Versuche meist zu klein) des 8. und 9. Stadiums 0,01 cm³ 20% Glucoselösung injiziert. Gegenüber Salzlösungen hat Glucose den Vorteil, das Ionengleichgewicht des Tieres nicht zu stören; andererseits darf angenommen werden, daß sie normalerweise im Stoffwechsel auftritt. Nach Angaben von

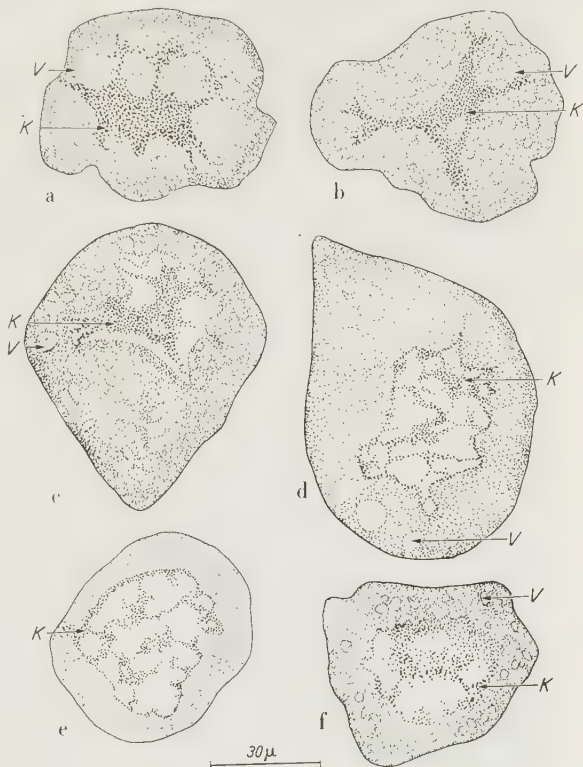


Abb. 27 a—f. Oenocyten von Larven des 7. und 8. Stadiums. 1 Std (a), 2 Std (b), 3 Std (c), 4 Std (d) und 6 Std (e, f) nach Injektion von 20% Glucoselösung. In (a) und (b) ist der Kern stark verzweigt, im Plasma sind zahlreiche Vakuolen sichtbar. In den späteren Stadien ist der Kern mehr oder weniger deutlich blasig aufgelockert. Die Plasmavakuolen werden größer und wandern nach außen (d). In Stadium (e, f) enthalten einzelne Oenocyten keine Plasmavakuolen mehr. Feulgenfärbung

BEADLE und SHAW (1950) entspricht der osmotische Druck des Blutes von *Sialis* 0,8—1,10% NaCl, was etwa einer 0,166 n NaCl-Lösung gleichkommt. Das Blutvolumen beträgt nach denselben Autoren bei Larven des letzten und zweitletzten Stadiums, wie sie auch in diesen Versuchen verwendet wurden, etwa 0,05 cm³. Die 20% Glucoselösung ist rund 1n, wird aber im Tier durch die Hämolymphe weitgehend verdünnt. Die Larven ertrugen den Eingriff sehr gut; in keinem Falle hatte dieser den Tod eines Versuchstieres zur Folge.

Es wurden 4 Versuche mit total 110 Tieren durchgeführt; in regelmäßigen, zeitlichen Abständen zwischen 1/2 und 6 Std nach der Injektion wurden je 3 bis

6 Tiere fixiert und wiederum alle einzeln histologisch kontrolliert. Eine Serie mit 25 Tieren wurde nach CHAMPY fixiert und diente zur Darstellung des Golgi-Apparates, wie sie im histologischen Teil der Arbeit beschrieben worden ist. Die übrigen Larven wurden nach BOUIN-DUBOSCQ oder CARNOY fixiert und nach FEULGEN oder mit Eisentrioxyhämatein Hansen gefärbt.

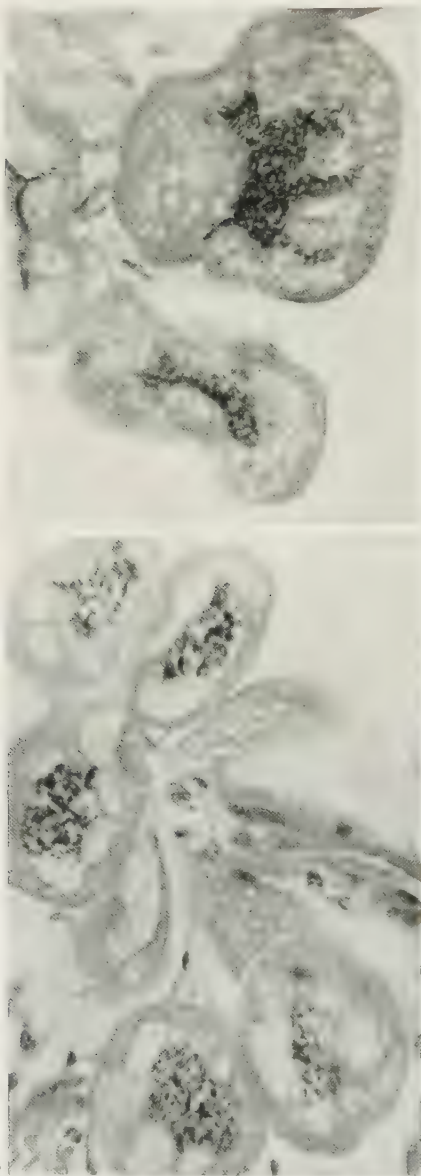


Abb. 28 a u. b. Oenocyten von Larven des 7. und 8. Stadiums. (a) $\frac{1}{2}$ Std, (b) 3 Std nach Injektion von 20 % Glukoselösung. (a) mit stark verzweigten Kern. In (b) ist der Kern durch anliegende, große Vakuolen deformiert. Feulgenfärbung. Vergr. 500 $\times$ (a), 420 $\times$ (b)

Ergebnisse. $\frac{1}{2}$ Std nach Injektion traten in den Oenocyten einzelner Tiere kleinere Vakuolen meist rund um den Kern herum auf. Das Chromatin war kompakt und homogen im ganzen Kern verteilt.

1 Std nach der Injektion war der Kern fast immer stark aufgelockert und das Chromatin um einzelne „Kernblasen“ herum angeordnet (vgl. Abb. 16).

Kurze Zeit später, oft aber erst 2—3 Std nach der Injektion, war das Chromatin wieder homogen, der Kern aber immer noch stark deformiert mit zahlreichen, dünnen Ausläufern ins Plasma. Zwischen diesen, den Kerneinbuchtungen anliegend, waren im Plasma zahlreiche, große Vakuolen zu finden. Die Oenocyten zeigten hier das Bild, wie es OCHSÉ als typisch für die Vakuolenbildung in larvalen Oenocyten von *Sialis* beschrieben hat.

In späteren Stadien, 3—6 Std nach Injektion, waren die Resultate weniger gleichmäßig. Die Plasmavakuolen hatten sich oft weit vom Kern entfernt. In einzelnen Fällen hatte dieser seine normale Form zurückgewonnen; meist blieb er jedoch durch Vakuolen deformiert. In gewissen Präparaten schienen sich die Plasmavakuolen nach außen zu entleeren. Wie in der Metamorphosephase C bildeten sich in den äußersten Plasmazonen feine Sekretgänge, in denen möglicherweise der Vakuoleninhalt nach außen geleitet wird.

Die Abb. 27 und 28 geben einige der beobachteten Stadien wieder.

Auf die Veränderungen des Golgi-Apparates ist schon im histologischen Teil der Arbeit hingewiesen worden. Die Golgi-Körper sammelten sich meist um die

Vakuolen herum an; es scheint, daß sie ihre maximale Ausbildung kurz vor dem Stadium der stärksten Plasmavakuolisierung erreichen.

Es wurden einige Kontrollversuche mit NaCl-Injektion und 0,8—1% NaCl als Badeflüssigkeit durchgeführt. Die Oenocyten zeigten hier ähnliche histologische Bilder wie nach Glukoseinjektion. Die oben beschriebenen Reaktionen stellen somit nicht eine spezifische Reaktion auf Glukose dar, sondern dürfen wohl eher als Antwort der Oenocyten auf die Veränderungen des inneren Milieus aufgefaßt werden.

Weiter wurde geprüft, ob die beobachteten Erscheinungsformen von Kern und Plasma nicht nur als Fixierungsartefakte interpretiert werden müssen. Es gelang, die verschiedenen Stadien auch in frischen, unfixierten Oenocyten nachzuweisen, die direkt durch Sektion des Tieres erhalten wurden. Leider war es unmöglich, Oenocyten *in vitro* in mit Glukose angereicherter, steriler Ringerlösung am Leben zu erhalten und die geschilderten Vorgänge so in den Zellen direkt zu verfolgen. Im lebenden Tier sind die Oenocyten einer Beobachtung dieser feinen Veränderungen nicht zugänglich.

Die erhaltenen Bilder dürfen vielleicht dahin interpretiert werden, daß durch die (osmotische ?) Veränderung des "milieu intérieur" ein Regulationsmechanismus in den Oenocyten aktiviert wird. Ob dies direkt erfolgt oder nicht, ist unbekannt. Jedenfalls konnte von OCHSÉ keine Innervation der Oenocyten nachgewiesen werden; es ist aber auch an die Möglichkeit einer hormonalen Regulation, am ehesten via *Corpora allata*, zu denken. Die histologischen Bilder sprechen dafür, daß der Inhalt der Vakuolen im Kern gebildet, von dort ins Plasma und weiter nach außen in die Hämolymphe entleert wird. Im histologischen Präparat sind die Vakuolen meist leer. Auch nach den histochemischen Untersuchungen läßt sich deshalb über die Natur des Vakuoleninhaltes nichts Genaueres aussagen. Es wäre dies die Aufgabe feinsten biochemischer Analysen. Vielleicht darf in diesem Zusammenhang noch darauf hingewiesen werden, daß DE GROODT, LAGASSE und SEBRUYNS (1956) elektronenmikroskopisch den Übertritt von Sekretvakuolen aus dem Kern ins Plasma nachgewiesen haben. Diese Vorgänge wurden ausschließlich an Leberzellen festgestellt, die *keinen* Nukleolus besaßen, was immerhin eine Parallele zu den Oenocyten darstellt. Nach diesen Autoren, wie auch nach FALLER (1945), ORTMANN (1949) u. a. soll bei Vertebratenzellen eine enge Beziehung zwischen dem Vorhandensein des Nukleolus und dem Phänomen der „Kernsekretion“ bestehen.

b) *Injektion von Glukosamin*. Dieser Stoff, dem bei Insekten eine Bedeutung als Grundsubstanz des Chitins zukommt, wurde in Lösung von 2,5—5—10—20 bis 200 mg/cm³ in Dosen von 0,01 cm³ injiziert. Je 2—5 Tiere der verschiedenen Konzentrationsreihen wurden nach 1, 2, 4, 8, 11 und 24 Std nach CARNOY fixiert und jedes Tier in Längsschnitten auf der einen Seite nach FEULGEN, auf der anderen nach HANSEN gefärbt. Im Gegensatz zur Glukoseinjektion wurde diese Behandlung trotz Verwendung reinsten Glukosamins relativ schlecht ertragen. Kurze Zeit, $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Std nach Injektion, waren die Tiere bewegungslos und gaben nur noch schwache Lebenszeichen. Länger als 24 Std lebten nur wenige Tiere.

1—2 Std nach Injektion war hier der Kern stark verzweigt und durch Plasmavakuolen deformiert. Besonders bei den hohen Glukosamin-Konzentrationen wurde die Kern-Plasmagrenze sehr undeutlich. Im Hämatoxylinpräparat

zeigten die Vakuolen nach Gegenfärbung mit Eosin oft einen stark eosinophilen Inhalt. Nach 4 Std war das Plasma meist durch zahlreiche, kleine Vakuolen wabenartig aufgelockert. Peripher war im Hämatoxylin-Präparat nicht selten ein Kranz basophiler, granulierter oder mehr flockiger Substanz sichtbar. Nach 8 Std waren keine weiteren Veränderungen zu beobachten. Später waren bei allen Glukosaminkonzentrationen sowohl Zellen mit rundlichem Kern und nur

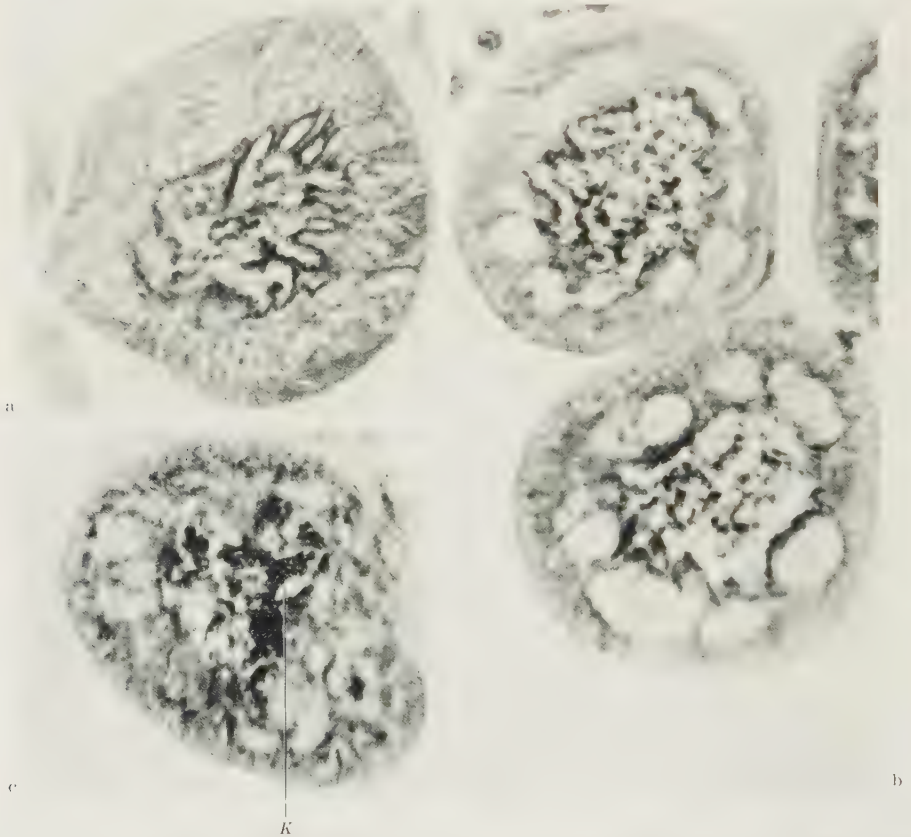


Abb. 29a—c. Oenocyten von Larven des 9. Stadiums. (a) 1 Std, (b) 2 Std und (c) 36 Std nach Injektion von Glukosamin (2.5 mg cm^3). Kernmaterial überall stark geballt. In (c) sind die Kerne in Auflösung begriffen. In (a) sind im Plasma Sekretkanälchen deutlich sichtbar. (b) mit sehr großen Plasmavakuolen. Alle Zellen mit basophiler Anfärbung des Plasmas, in (c) größere, basophile Schollen im Plasma. Hansen-Eosin. Vergr. $600 \times$ (a), $570 \times$ (b), $510 \times$ (c)

wenigen Plasmavakuolen, als auch solche mit intensiven Verästelungen des Kernes und starker Vakuolisierung des Plasmas zu finden. 48 Std nach Injektion traten bei den höchsten Konzentrationen Kernpyknosen auf. Im Plasma erschien basophiles Material bald in größeren Schollen, bald in einem mehr homogenen, peripheren Ring. In Abb. 29 sind einige histologische Bilder aus diesem Versuch wiedergegeben.

Wie die offensichtlich schädigende Wirkung des Glukosamins auf die *Sialis*-Larven interpretiert werden muß, ist unklar. Die Oenocyten werden stark aktiviert und erleiden zugleich Schädigungen. Vor allem bei höheren Konzentrationen kommt es zu deutlichen Kernpyknosen.

c) *Reaktion der Oenocyten auf artfremde Implantate.* An 25 Tieren aus älteren Versuchsserien, bei denen ins abgeschnürte Abdomen Prothoraxdrüsen und Malpighische Gefäße von *Galleria melonella* implantiert worden waren, wurde histologisch kontrolliert, ob eine Aktivität der Oenocyten festzustellen sei.

Kontrolltiere, die lediglich geschnürt worden waren, zeigten Vakuolenbildung im Oenocytenplasma; die Kerne waren mehr oder weniger rundlich und selten abnorm deformiert. Die Tiere wurden 2—7 Tage nach der Abschnürung des Abdomens fixiert.

Tiere mit Implantaten wiesen beim Tod am 2.—3. Tag post op. einen diffus ins Plasma übergehenden Kern mit zahlreichen Ausläufern und Vakuolen im Plasma auf. Bei Tieren, welche den Eingriff länger (bis zu 7 Tagen) überlebten, waren Vakuolen im Plasma und vor allem Degenerationserscheinungen des Kernes zu beobachten, der sich anfänglich mit kompakten, groben Chromatinschollen intensiv anfärbte, später dagegen kaum noch färbbar war.

Die Oenocyten scheinen durch die Implantate stärker aktiviert zu werden, als dies bei Schnürung allein der Fall ist. Die Degeneration der Zellen, vor allem ihrer Kerne, dürfte auf eine Vergiftung durch die artfremden Eiweißkörper des Implantates zurückzuführen sein. Auch in diesen Versuchen reagieren die Oenocyten charakteristisch auf eine, in diesem Falle schädliche Veränderung des inneren Milieus.

II. Tiere nach Oenocytenkoagulation

Wirkungen der Oenocytenkoagulation. Eine Ausschaltung der Oenocyten durch totale Exstirpation ist leider unmöglich, da dazu 7 Abdominalsegmente beidseitig eröffnet werden müßten, was den sicheren Tod der Larven zur Folge hätte. Deshalb wurde versucht, nach der eingangs beschriebenen Methode durch partielle Ausschaltung mittels Elektrokoagulation einen Hinweis auf die Funktion der Oenocyten zu erhalten. Wie schon erwähnt, durften wegen gleichzeitiger, intensiver Beschädigung der Kiementracheen nicht alle Oenocyten zerstört werden. Nachträgliche histologische Kontrollen ergaben, daß bei den durchgeführten Koagulationen mehr als die Hälfte bis $\frac{3}{4}$ aller Oenocyten eines Tieres irreparabel geschädigt worden sind. Abb. 30 zeigt, daß die der Hypodermis am nächsten liegenden Oenocyten meist vollständig zerstört sind, während weiter innen gelegene starke Kernpyknosen aufweisen.

Bei frisch gefangenen Tieren starben 3% innerhalb der ersten 7 Tage nach der Operation, was noch als Folge von Operationsschäden gewertet wurde. Bei Hungertieren stieg diese Zahl zuweilen bis auf 33%.

In Abb. 31 sind die Überlebenszeiten nach Oenocytenkoagulation graphisch dargestellt.

Die Tiere können die Operation relativ lange überleben, ohne, abgesehen von den Operationsnarben, äußerlich oder auch histologisch wahrnehmbare Schädigungen aufzuweisen. Auffallend ist einzig, daß vom 2.—3. Tag post op. an kein Tier mehr Futter zu sich nimmt.

Die lange Überlebensdauer nach Koagulation des größeren Teils der Oenocyten spricht ebenfalls gegen eine Exkretspeicherfunktion dieser Zellen. Würden in ihnen wirklich Endprodukte des Stoffwechsels abgelagert, so müßten die Tiere nach Zerstörung der Oenocyten rascher an Vergiftungserscheinungen zugrunde gehen.

Nach Koagulation der Oenocyten wurden folgende Versuche durchgeführt:

1. Blutentnahmen. Es sei nochmals auf die Arbeit von BEADLE und SHAW (1950) hingewiesen, nach der bei der *Sialis*-Larve der osmotische Wert der Hämolymphe 0.8—1.10% NaCl entspricht. Davon wird ein 0.15—0.35% NaCl gleichkommender Druck durch Chlorid geliefert. Für den ganzen übrigen Anteil sind Aminosäuren verantwortlich; durch sie wird nach Blutentnahmen der osmotische Wert der Hämolymphe, zum Teil auf Kosten der Blutproteine, auf den Normalwert zurückreguliert.

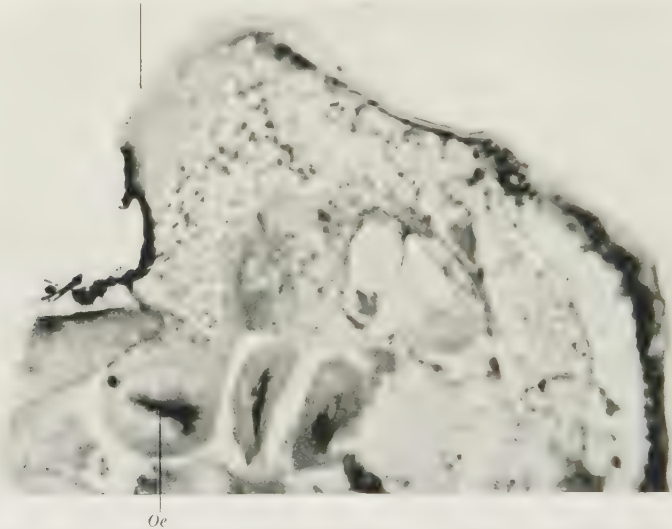


Abb. 30. Längsschnitt durch das Abdomen einer *Sialis*-Larve, 3 Wochen nach Koagulation der Oenocyten. Dunkle Stellen der Cuticula: „Koagulationsnarbe“. Periphere Oenocyten in Auflösung, die übrigen mit deutlichen Kernpyknotosen. Vergr. 142×

In eigenen Versuchen sollte abgeklärt werden, ob die Oenocyten an diesen Regulationen teilnehmen. Dazu wurde erstmals eine Woche nach der Oenocytenkoagulation den Larven nach der eingangs beschriebenen Methode Blut in möglichst großer Menge entnommen und

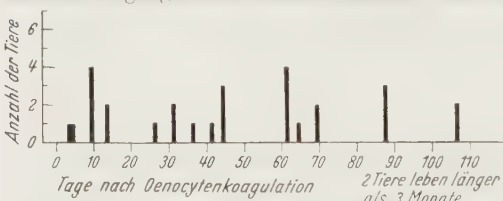


Abb. 31. Überlebenszeit nach Oenocytenkoagulation. Versuch mit 36 Tieren

von jedem Tier eine Probe zweidimensional auf Papier chromatographiert. Die Blutentnahmen wurden nach der 2. oder 3. Woche wiederholt. Kontrollen wurden durchgeführt a) an unoperierten, hungernden Tieren (operierte Tiere fressen nicht!), b) an Tieren mit 14 Koagulationsstellen auf der Dorsalseite des Abdomens, aber ohne Zerstörung der Oenocyten. Weiter

wurde an unoperierten Tieren histologisch geprüft, ob sich auf die Blutentnahme eine Aktivierung der Oenocyten feststellen läßt.

Die getrockneten Chromatogramme wurden mit Ninhydrin besprüht zum Nachweis von Aminosäuren und niederen Peptiden. Die Tabelle 3 gibt die Zahl der Ninhydrin-positiven Flecken im Chromatogramm bei den einzelnen Versuchsgruppen wieder.

Die Tabelle 3 zeigt, daß nach der ersten Blutentnahme kein Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen festzustellen ist. Bei der 2. und 3. Entnahme ist die Zahl der Ninhydrin-positiven Flecken (Aminosäuren!) bei den Tieren mit Oenocytenkoagulation immer größer und signifikant von den Kontrollen verschieden. Wichtig ist, daß diese Signifikanz auch gegenüber Tieren mit dorsaler

Tabelle 3. *Blutentnahmen nach Oenocytenkoagulation.* Anzahl der Ninhydrin-positiven Stellen im Papierchromatogramm der Hämolymphe. 0 Oenocytenkoagulation, Ø unbehandelte Kontrolle, dØ Kontrolle mit dorsalen, oberflächlichen Koagulationen des Abdomens

Datum	Zahl der Entnahmen	Eingriff	Anzahl der Ninhydrin + Stellen (Durchschnitt)	Anzahl der Tiere	Signifikanz der Unterschiede (t-Test, S. 664)
Juli 1955	1.	0	3,08	12	nicht signifikant
		Ø	2,37	8	P < 0,4
	2.	0	7,22	9	signifikant
		Ø	3,4	5	P < 0,01
	3.	0	8,0	4	signifikant
		Ø	4,0	3	P < 0,01
August 1955	1.	0	3,0	12	nicht signifikant
		Ø	3,55	10	P < 0,2
	2.	0	3,75	8	signifikant
		Ø	2,77	9	P < 0,01
	3.	0	5,33	3	signifikant
		Ø	3,125	8	P < 0,001
Januar 1956	1.	0	3,05	22	nicht signifikant
		dØ	3,16	20	P < 0,8
	2.	0	3,74	19	signifikant
		dØ	3,08	14	P < 0,01
	3.	0	4,12	16	signifikant
		dØ	2,75	8	P < 0,01

Koagulation besteht. Die Zunahme der Ninhydrin-positiven Stoffe, also der Aminosäuren oder allgemeiner des Nichtprotein-Stickstoffes, erfolgt somit eindeutig als Reaktion auf die Oenocytenkoagulationen und nicht etwa als Folge der einfachen Gewebszerstörung. Wie schon oben erwähnt, konnten BEADLE und SHAW zeigen, daß nach Blutentnahme vermehrt Blutproteine in Aminosäuren übergeführt werden und so in der neu gebildeten Hämolymphe ein normaler osmotischer Wert eingestellt wird. An der Regulation dieses Vorganges sind die Oenocyten maßgeblich beteiligt, indem zwischen Tieren mit Oenocytenkoagulation und unbehandelten Kontrolltieren ein signifikanter Unterschied im Aminosäuregehalt der neugebildeten Hämolymphe besteht.

Aus der Tabelle 3 geht weiter hervor, daß bei operierten Tieren die Sterblichkeit im allgemeinen größer war als bei unbehandelten Kontrolltieren. Larven mit dorsalen Koagulationen am Abdomen waren ebenfalls weniger widerstandsfähig.

Wie schon bei den technischen Angaben erwähnt, wurde immer dieselbe kleine Blutmenge von 0,01 cm³ chromatographiert. Dabei dürften zusätzliche Ninhydrin-positive Stellen in den 2. und 3. Blutproben weniger das Auftreten neuer Aminosäuren in der Hämolymphe, sondern eher eine Konzentrationssteigerung dieser Stoffe anzeigen, die damit in den Empfindlichkeitsbereich der Methode gelangen.

Im ersten Versuch wurden für alle Ninhydrin-positiven Stellen die zugehörigen Rf-Werte berechnet. Leider waren die Streuungen von Tier zu Tier sehr groß, wohl deshalb, weil die kleinen Blutmengen vor dem Chromatographieren nicht enteiweißt werden konnten. Auf eine Identifizierung der einzelnen Aminosäuren wurde aus diesem Grunde verzichtet.

Die histologische Kontrolle der Versuchstiere mit dorsalen, abdominalen Koagulationen ergab einen relativ „aktiven“ Zustand der Oenocyten mit Plasmavakuolen, Kernaustläufern oder diffuser Kern-Plasmagrenze.

Zwischen Tieren mit Oenocytenkoagulation und unbehandelten Kontrolltieren konnte in Versuchen mit 0.8% und 1% NaCl-Lösung als Badeflüssigkeit kein signifikanter Unterschied in der Lebensdauer festgestellt werden. Nach BEADLE und SHAW (1950) erfolgt in solchen Versuchen als Reaktion auf die Anreicherung des Blutes mit Cl-Ionen eine Regulierung des osmotischen Druckes durch Zunahme des Protein-N und Abnahme des Nichtprotein-N. Falls die Oenocyten an diesen Verschiebungen beteiligt sind, müßte bei den operierten Tieren die Aktivität der von der Koagulation nicht berührten Oenocyten ausreichen. Auch bei Glukoseinjektion ließ sich nach Koagulation kein Unterschied in der Verträglichkeit dieser Behandlung gegenüber Kontrollen feststellen. Dafür, daß die bei den Koagulationen intakt bleibenden Zellen leichten Beanspruchungen dieses Regulationssystems genügen können, sprechen auch die Resultate der Blutuntersuchungen: erst nachdem durch die erste Blutentnahme die Notwendigkeit der Hämolymphe Neubildung entsteht, zeigt sich die Unfähigkeit der operierten Tiere, eine Hämolymphe normaler Zusammensetzung zu bilden.

2. Histologische Kontrolle der Wirkung von Blutentnahmen auf die Oenocyten.

An 56 zweijährigen Larven, davon 11 unbehandelten Kontrolltieren, wurde geprüft, ob histologisch eine Reaktion der Oenocyten auf Blutentnahmen festzustellen sei. Durch Auspressen wurde den Tieren möglichst viel Blut entnommen. 1¹/₂, 1, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72 und 96 Std nach dem Eingriff wurden je 4 Tiere nach BOUIN-DUBOSCQ fixiert und nach FEULGEN und HANSEN gefärbt.

Im Vergleich zu Kontrollen zeigten sich nach Blutentnahme Anzeichen intensiverer Aktivität der Oenocyten. Doch war der Unterschied nicht sehr deutlich. Besonders zwischen 4 und 24 Std erschienen im Plasma von Oenocyten-behandelter Tiere an der Zellperipherie sehr oft feinste „Sekretgänge“, was auf eine Entleerung von Plasmavakuolen nach außen schließen läßt (Abb. 30).

3. Zusammenhang zwischen Oenocyten und Corpora allata. DAY (1943) beschrieb bei *Lucilia sericata* und *Sarcophaga securifera*, VOGT (1948) bei *Drosophila hydei* ein Kleinerwerden der Oenocyten bei der Imago nach Exstirpation der Ringdrüse oder deren Corpora allata-Anteile. Bei den beiden ersten Muscidenformen wurden nach diesen Eingriffen auch Kernpyknosen der Oenocyten beobachtet. Gleichzeitig traten histologische Veränderungen des Fettkörpers auf: Verkleinerung der Kerne, Vergrößerung der Zellen, wahrscheinlich auch gesteigerte Fettspeicherung. Wie schon ALBRO (1930) schließen auch diese beiden Autoren daraus auf eine Mitbeteiligung der Oenocyten am intermediären Stoffwechsel, wobei den Oenocyten „eine Mittlerrolle bei der Mobilisation der nichtfettigen Substanzen“ zukommen würde. Die Corpora allata, deren Hormon nach PFLUGFELDER (1952) den Gesamtstoffwechsel beeinflußt, würden die Aktivität von Fettkörper und Oenocyten kontrollieren.

2—27 Tage nach Oenocytenkoagulation wurden zweijährige *Sialis*-Larven fixiert und die neurosekretorischen Gehirnzellen, Corpora cardiaca und Corpora allata nach Fuchsin-Paraldehyd-Färbung (GABE 1953) des Neurosekretes mit denjenigen unbehandelter, gleichaltriger Kontrolltiere verglichen. Für die neurosekretorischen Gehirnzellen und die Corpora cardiaca ließ sich kein Unterschied feststellen. Bei den Corpora allata dagegen ergaben Messungen eine deutliche, statistisch gesicherte Zunahme der Kerngröße bei operierten Tieren gegenüber den Kontrollen. Die Abb. 32 gibt je einen Schnitt durch ein Corpus allatum eines Versuchstieres und einer Kontrolle bei gleicher Vergrößerung wieder. In

der Tabelle 4 sind die Resultate der t-Teste zwischen Kontrollen und operierten Tieren aufgeführt. Gleiche Resultate wurden bei Messungen an Schnitten von Tieren aus anderen Versuchsreihen mit Oenocytenkoagulation erhalten.

Durch Kopfschnürung wurde bei 50 Tieren die Wirkung der Corpora allata in Thorax und Abdomen unterbunden. In Abständen von 5 bis 60 Tagen nach der Operation wurden die Larven nach BOUIN-DUBOSCQ fixiert und nach Hansen-Eosin-Färbung histologisch kontrolliert. Schon 5 Tage nach der Kopfschnürung waren die Oenocyten in ihrem äußeren Umriß sehr oft stark gelappt, der Kern ebenfalls sehr unregelmäßig geformt, in einzelnen Fällen pyknotisch. Das Plasma zeigt vor allem in Kernnähe häufig eine wabenartige Auflockerung durch sehr zahlreiche, kleine Vakuolen (Abb. 33). Später, 10—15 Tage post op. wiesen die Oenocyten meist einen pyknotischen Kern und viel basophiles Material im Plasma auf. In wenigen Fällen war der Kern in Auflösung begriffen und nur mehr schwach färbbar. Im Vergleich zu Kontrolltieren, die diese Veränderungen nicht erkennen ließen, waren die Oenocyten der geschnürten Tiere meist auch kleiner geworden, wobei vor allem die Plasmamenge vermindert war. Die Ergebnisse dieses Versuches sind insofern bemerkenswert, als aus ihnen hervorgeht, daß die Oenocyten von den Corpora allata abhängig sind. Wie die pyknotischen, zum Teil sogar sich auflösenden Kerne zeigen, ist die Lebensfähigkeit dieser Zellen an eine dauernde Beeinflussung durch das Hormon der Corpora allata gebunden. Sie verhalten sich also ganz anders

Tabelle 4. *Signifikanz der Unterschiede in der Kerngröße der Corpora allata bei Sialis-Larven mit und ohne Oenocytenkoagulation*

	Tage nach Koagulation										
	2	2	3	3	3	4	6	6	8	10	27
Kernmasse (Durchschnitt in Meßeinheiten)	$7,4 \times 9,9$	$6,9 \times 9,8$	$7,9 \times 10,8$	$7,0 \times 10,1$	$7,5 > 9,9$	$6,9 \times 9,5$	$8,1 \times 10,8$	$8,4 \times 10,8$	$7,0 \times 9,7$	$8,0 < 11,1$	$9,5 \times 11,9$
Kontrollen (4 Tage nach Koagulation der Versuchstiere fixiert) $5,3 > 7,6$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$
Kontrollen (10 Tage nach Koagulation der Versuchstiere fixiert) $6,3 \times 9,3$	$< 0,001$ $< 0,01$	$< 0,01$ $< 0,05$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,01$	$< 0,001$ $< 0,02$	$< 0,01$ $< 0,6$	$< 0,001$ $< 0,01$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,2$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$
Kontrollen (27 Tage nach Koagulation der Versuchstiere fixiert) $6,2 > 9,3$	$< 0,001$ $< 0,02$	$< 0,01$ $< 0,1$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,01$	$< 0,001$ $< 0,01$	$< 0,01$ $< 0,6$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,2$	$< 0,001$ $< 0,001$	$< 0,001$ $< 0,001$

Die oberen Werte geben jeweils den P-Wert für den kleineren, die unteren Zahlen für den größeren Kerndurchmesser an, bei dem der Unterschied zweier Werte gesichert ist. Signifikanz wurde angenommen bis zu P 0,01. *Kursiv gedruckt* sind die umgesetzten Werte.

als etwa die Zellen der Prothoraxdrüsen, die in Kopf-geschnürten Tieren voll funktionstüchtig bleiben und auch in Abwesenheit der Corpora allata durch das Hormon der neurosekretorischen Gehirnzellen zur Bildung und Abgabe ihres Inkretes angeregt werden können. Die Frage bleibt allerdings offen, ob die Wirkung der Corpora allata auf die Oenocyten eine direkte

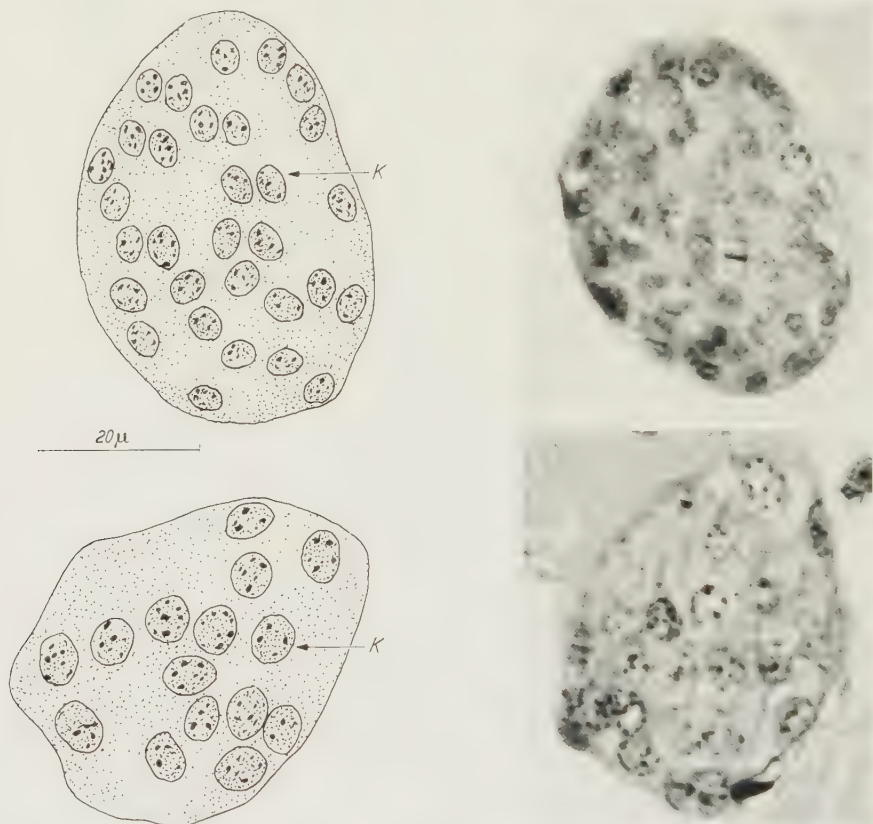


Abb. 32. Corpus allatum eines unbehandelten Kontrolltieres (oben) und einer Larve 10 Tage nach Oenocytenkoagulation (unten). Gleiche Vergrößerung. Deutliche Zunahme der Kerngröße beim operierten Tier. Der Unterschied in der Kernzahl ist durch verschiedene Schnittdicke bedingt. Paraldehyd-Fuchsin-Färbung

ist, oder ob sie indirekt, vielleicht über eine Störung der Exkretionsvorgänge zustande kommt. Es wäre abzuklären, ob eventuell nach Kopfschnürung, also nach Ausschaltung der Corpora allata, die Funktion der Malpighischen Gefäße gestört ist und als Folge davon die Hämolymphe mit giftigen Stoffwechsel-Endprodukten angereichert wird. Diese Möglichkeit muß berücksichtigt werden, da einerseits eine Beeinflussung des gesamten Stoffwechsels durch die Corpora allata angenommen wird, andererseits die erhaltenen histologischen Bilder der Oenocyten nach Kopfschnürung denjenigen nach Injektion von Stoffwechselgiften (Abb. 25, 26) und Glukosamin (Abb. 29) sehr ähnlich sind.

Diese beiden Versuchsreihen zeigen also, daß neben der regulierenden Wirkung der Corpora allata auf die Oenocyten (s. Kopfschnürungen), wie sie schon DAY

und Vogt gefunden haben, bei *Sialis*-Larven auch eine Rückwirkung der Oenocyten auf die Corpora allata (Oenocytenkoagulationen) angenommen werden darf.

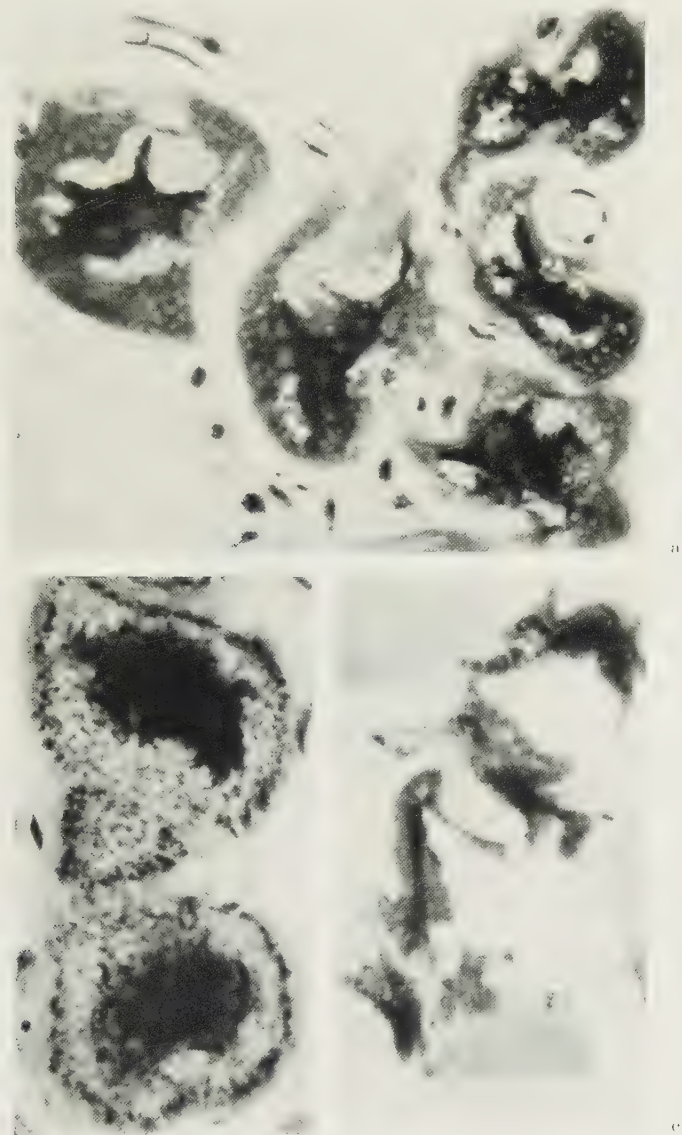


Abb. 33a—c. Oenocyten von *Sialis*-Larven mit Kopfschnürung. (a) 5 Tage, (b) 10 Tage, (c) 20 Tage nach der Schnürung. Plasma vor allem in (a) und (b) in Kernnähe durch größere und sehr zahlreiche kleine Vakuolen wabenartig aufgelockert. Kern deformiert, Übergang zum Plasma überall unscharf abgegrenzt, Chromatin dicht, Pyknose. (c) zeigt deutlich die Größenabnahme der Oenocyten. Hansen-Eosin.
Vergr. 300 $\times$ (a, b), 570 $\times$ (c)

Wahrscheinlich steht die Wechselwirkung Corpora allata—Oenocyten in Zusammenhang mit dem Stoffwechsel. Es wurde versucht, den Sauerstoffverbrauch von Larven mit koagulierten Oenocyten und von Kontrolltieren zu bestimmen. Leider war dies aber mit den zur Verfügung stehenden Methoden nicht möglich.

4. Metamorphose nach Oenocytenkoagulation. Bei 32 Metamorphose-bereiten Larven, die seit Februar im Kühlschrank gehalten worden waren, wurden am 11. 5. 56 die Oenocytenkoagulationen durchgeführt. Ein Tier starb an Operationsfolgen innerhalb der ersten 5 Tage, während welcher die Tiere weiter bei + 5° C gehalten wurden. Am 16. 5. wurden sie in Zimmertemperatur gebracht.

- 4 Tiere gingen ein, nachdem sie Zeichen beginnender Kiemenretraktion zeigten (12,9%)
- 6 nach vollständiger Kiemenretraktion (19,4%)
- 9 nach erfolgter Puppenhäutung als helle, unausgefärbte Puppe (29%)
- 9 als voll ausgefärbte Puppe (29%)
- 3 Tiere erreichten das Imaginalstadium (9,7%)

Von 11 Kontrolltieren gingen

- 3 nach der Puppenhäutung ein. (27,3%)
- 3 als voll ausgefärbte Puppe (27,3%)
- 5 entwickelten sich zu Imagines (45,4%)

Sowohl Puppen wie Imagines operierter Larven lassen äußerlich keinen Unterschied gegenüber Kontrolltieren erkennen. Abb. 34 zeigt eine aus einer operierten Larve entstandene Puppe.

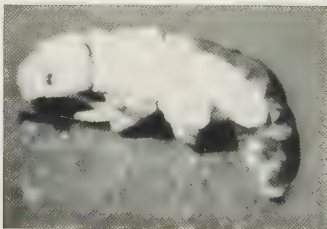


Abb. 34. Normal ausgebildete Puppe, die sich aus einer *Sialis*-Larve nach Koagulation der Oenocyten entwickelt hat. Das Tier ist eingegangen, bevor Kopf und Thorax voll ausgefärbt waren

Über die Dauer der einzelnen Metamorphosephasen orientiert Tabelle 5.

Die Metamorphose dauert bei operierten Tieren allgemein länger, auch erreichen prozentual mehr Kontrolltiere das Imaginalstadium.

Am 24. 3. 56 wurden 20 operierte Tiere direkt nach der Koagulation in Zimmertemperatur gebracht. Nach 4 Tagen waren 18 davon tot, wobei nur 3 Anzeichen einer beginnenden Metamorphose zeigten. 1 Tier überlebte den Eingriff 15 Tage, ging aber nach vollständiger Kiemenretraktion ebenfalls ein. 1 Tier begann 23 Tage post op. mit der Puppenhäutung; diese blieb unvollständig und das Tier starb nach weiteren 4 Tagen.

Frühere Versuche hatten für operierte Tiere ebenfalls eine stark verzögerte Metamorphose und häufiges Absterben schon nach beginnender Kiemenretraktion ergeben.

Von operierten Tieren, die das Puppen- oder Imaginalstadium erreicht hatten, und von entsprechenden Kontrolltieren wurden histologische Präparate von Thorax und Abdomen hergestellt und nach Azan gefärbt. Dabei zeigte sich in der Ausbildung der Cuticula keinerlei Unterschied zwischen operierten und Kontrolltieren. Wieweit die beobachtete Metamorphoseverzögerung durch Ausfall

Tabelle 5. Tage, die zum Erreichen der folgenden Stadien benötigt werden:

Nr.	Beginn der Metamorphose	Vollständige Kiemenretraktion	Puppenhäutung	Dunkle Puppe	Imago
Mit Koagulation					
1	4	8	12 (13+)		
2	17 (+)				
3	15	16	19 (22+)		
4	6	10	13	17 (20+)	
5	5	10	11	16	17
6	3	8	9	13 (16+)	
7	3	8	10	14 (20+)	
8	15+				
9	2	6 (13+)			
10	6	10	12 beginnende Häutung +		
11	7	11	14		
12	8	15	18 (19+)	18 (22+)	
13	5	8	11 (unvollständige Häutung +		
14	4	8	11	16 (20+)	
15	5	8	12 (14+)		
16	4	8	10 (14+)		
17	7	10 unvollständige Retraktionen +			
18	6	11	12	16	20 (+)
19	8	13	18 (+)		
20	6	9	12	16 (20+)	
21	6+				
22	10	11	14	19+	
23	5	8 unvollständige Retraktionen +			
24	6	11	14	18	19 (24+)
25	8	12	16	21 (24+)	
26	6	10	18+		
27	4	8+			
28	10	17+			
29	17 (18+)				
30	5	8	12	16 (22+)	
31	8	25 (26+)			
Kontrollen					
1	1	3	6 (8 +)		
2	1	4	6	10+	
3	1	2	3	9+	
4	1	3	4	8	9
5	2	3	9+		
6	1	4	7 (8 +)		
7	1	3	8	9	11
8	1	3	7	9	11
9	1	2	5	9	11
10	1	3	5	7	9
11	1	2	5	9 (11+)	

der Oenocyten oder durch schädigende Nebenwirkungen der Operation bedingt ist, geht aus den Versuchen nicht klar hervor. Dies müßte eine möglichst vollständige Zerstörung aller Oenocyten zeigen, die aber, wie schon früher erwähnt, ohne ausgedehnte Zerstörungen vor allem am Tracheenapparat nicht durchführbar ist und deshalb den raschen Tod der Tiere zur Folge hat.

Diskussion der Resultate

1. Aus den histologischen und histochemischen Untersuchungen geht hervor, daß die larvalen Oenocyten von *Sialis lutaria* voll funktionstüchtige Zellen mit wahrscheinlich sehr intensivem Stoffwechsel darstellen. Dafür spricht ihre reiche Versorgung mit Tracheen, der im Vergleich zu anderen Geweben hohe Gehalt an Desoxyribonucleinsäure und Ribonucleinsäure, die Anwesenheit von Fermenten der biologischen Oxydation und des Kohlehydratstoffwechsels (auch durch die Reaktionen der Oenocyten auf fermenthemmende Stoffe wahrscheinlich gemacht):

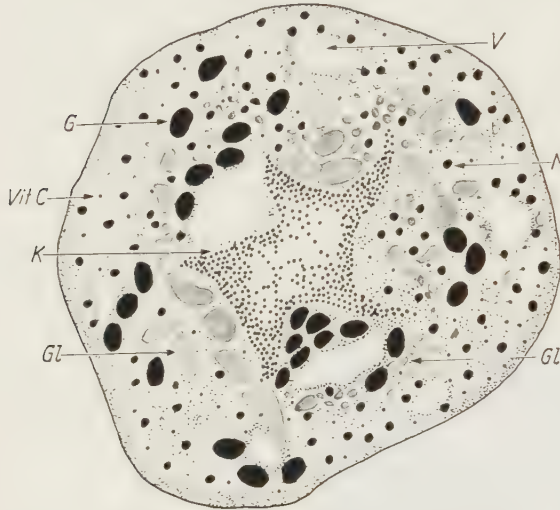


Abb. 35. Zusammenfassende, schematische Darstellung der mit den verschiedenen Techniken nachgewiesenen Oenocytenbestandteile. Kern (K) mit Desoxyribonucleinsäure; im Plasma mit Ribonucleinsäure (= feinste Grundgranula) die Golgi-Körper (G), Mitochondrien (M) mit Fermenten der biologischen Oxydation und des Kohlehydratstoffwechsels, feine Granula von Vitamin C (Vit C), Glykogen in feiner und grober Verteilung (Gl), Plasmavakuolen V. Nicht dargestellt sind die Lipide

von ihnen ist anzunehmen, daß sie wie in anderen tierischen Zellen in den reichlich vorhandenen Mitochondrien lokalisiert sind. Weiter können Glykogen und Lipide nachgewiesen werden. Der Gehalt der Oenocyten an Glykogen ist meist sehr hoch: im histologischen Präparat ist dieser Stoff einmal fein und gleichmäßig verteilt, dann wieder in größeren Schollen vorhanden, ohne daß sich eine Abhängigkeit von Fixierungsmethoden oder bestimmten Aktivitätsphasen der Oenocyten zeigen ließe. Einzig in den 2 Sekretionsphasen der Oenocyten während der Vorbereitung zur Puppenhäutung ist Glykogen immer in der gleichen Verteilung im Plasma zu finden. Nicht nur auf einen

aktiven Eigenstoffwechsel der Oenocyten, sondern auch auf eine inkretorische Tätigkeit dieser Zellen darf aus dem Vorhandensein des Golgi-Apparates und den zur Bildung von Vakuolen führenden Veränderungen in Kern und Plasma geschlossen werden (vgl. Abb. 35).

2. In der Literatur werden folgende Funktionen der Oenocyten in Betracht gezogen (WIGGLESWORTH, WIGGLESWORTH und KRAMER, DENNELL und MALEK, WOLFE, KAISER usw.):

- a) *Exkretion*, d. h. Speicherung von Endprodukten des Stoffwechsels.
- b) *Speicherfunktion*.
- c) *Beteiligung am intermediären Stoffwechsel*.
- d) *Regulation des inneren Milieus*.
- e) *Funktionen im Zusammenhang mit den Häutungen*.

a) Eine Funktion der Oenocyten als *Exkretspeicher* wird schon von OCHSÉ (1946) als unwahrscheinlich betrachtet. Durch den negativen Ausfall des Harnsäurenachweises wird dies erneut bestätigt.

b) Eine Speicherfunktion im Sinne von *Depotorganen* für Glykogen und Lipide ist für die Oenocyten von *Sialis* ebenfalls nicht anzunehmen. Glykogen schwindet in Hungerversuchen nach ungefähr $1\frac{1}{2}$ Monaten wohl bis auf einen geringen Rest aus den Oenocyten; im Fettkörper erfolgt diese Abnahme der Glykogenvorräte jedoch rascher und kann bis zur vollständigen Entleerung führen. Es ist kaum wahrscheinlich, daß die etwa 200 Oenocyten neben der riesigen Masse des Fettkörpers als Nährstoffspeicher irgendwelche Bedeutung besitzen. Glykogen dürfte vielmehr als Energie-liefernder Stoff für den Eigenstoffwechsel dieser Zellen und für die metabolischen Prozesse im Zusammenhang mit der Inkretbildung in Betracht kommen.

c) Für eine Beteiligung der Oenocyten am *intermediären Stoffwechsel* spricht die Nahrungsverweigerung, wie sie nach Oenocytenkoagulation stets zu beobachten ist. Möglicherweise ist die Resorption der aus dem Darm aufgenommenen Stoffe durch den Fettkörper oder andere Organe nach Oenocytenkoagulation weitgehend gestört, und es entsteht deswegen bei den operierten Tieren kein Hungergefühl mehr. Auf eine Bedeutung der Oenocyten für den intermediären Stoffwechsel weisen auch die allerdings nicht eindeutigen Resultate der Fütterungsversuche hin. Im Zusammenhang mit den oben erwähnten Resultaten der Oenocytenkoagulationen dürfen sie doch eher positiv bewertet werden. Die Beurteilung der Fütterungsversuche ist deshalb schwierig, weil eine Beteiligung an der Resorption der Nahrungsstoffe sicher nicht die einzige Funktion der Oenocyten ist und daher in den Kontrollen immer auch in anderem Zusammenhang aktive Zellen getroffen werden. Einen weiteren Hinweis auf eine Stoffwechselfunktion der Oenocyten geben die beobachteten Veränderungen der Corpora allata nach Oenocytenkoagulation und der Oenocyten nach Ausschaltung der Corpora allata durch Kopfschnürung. Es muß angenommen werden, daß das Hormon der Corpora allata nicht nur für die larvalen Häutungen von Bedeutung ist, sondern daß ihm auch eine „trophotrope“ Funktion zukommt, indem es den Gesamtstoffwechsel beeinflußt. Nach den Ergebnissen von DAY und VOGT und nach den Resultaten der eigenen Versuche übt das Corpus allatum-Hormon eine fördernde Wirkung auf die Oenocyten aus. Umgekehrt zeigt die Vergrößerung der Corpora allata-Kerne nach Oenocytenkoagulation, daß auch eine Rückwirkung, vermutlich im Sinne einer Hemmung, der Oenocyten auf die Corpora allata vorhanden ist. Diese erfolgt wohl nicht durch ein von den Oenocyten abgegebenes Hormon, sondern eher indirekt durch ihre Beteiligung an der Regulation des inneren Milieus im Zusammenhang mit den Auf- und Abbauvorgängen des intermediären Stoffwechsels, ähnlich etwa wie bei Wirbeltieren größere Schwankungen des Blutzuckerspiegels die hormonale Regulation durch Insulin, Glucagon, Hypophyse und Nebennierenrinde auslösen.

Damit ergibt sich eine Verbindung zu

d) *Regulation des inneren Milieus*. Wie Glukoseinjektionen, Injektionen von NaCl und NaCl als Bade Flüssigkeit, die Zunahme der Ninhydrin-positiven Stoffe bei Blutentnahmen nach Oenocytenkoagulation und die Reaktion der Oenocyten auf artfremde Implantate zeigen, sind die Oenocyten an der Aufrechterhaltung eines konstanten inneren Milieus aktiv beteiligt. Ob ihre regulierende Tätigkeit dabei direkt etwa durch osmotische Veränderungen der Hämolymphe (Glukoseinjektionen, Verdünnung der Hämolymphe durch Wasserresorption aus dem Darm

nach Blutentnahme. Anreicherung der Hämolymphe mit Cl-Ionen bei NaCl-Injektion oder NaCl als Bade Flüssigkeit) oder indirekt, am ehesten via Corpora allata, ausgelöst wird, kann nicht entschieden werden.

e) Für eine Funktion der Oenocyten im Zusammenhang mit den *Larvenhäutungen* können keine Anhaltspunkte gewonnen werden. Nicht sicher abgeklärt ist auch weiterhin ihre Funktion bei der *Metamorphose*; vielleicht weisen die bei der Reaktion mit Sudanschwarz nach BAKER erhaltenen Resultate auf eine Bildung von Lipoiden durch die Oenocyten im Sinne der Arbeiten von WIGGLESWORTH und anderen Autoren hin. Doch scheinen für diese Funktion, die mit der von OCHSÉ beobachteten Bildung der basophilen Substanz in Phase E zusammenfällt, die bei den Koagulationen intakt gebliebenen Oenocyten auszureichen. Die Bedeutung und Natur des Inkretes der ersten Aktivitätsperiode in Phase C konnten nicht geklärt werden.

Alle durchgeführten Versuche zeigen durch Beobachtung von Veränderungen der Hämolymphe oder des histologischen Bildes der Oenocyten lediglich, an welchen Vorgängen im Larvenkörper von *Sialis* die Oenocyten beteiligt sind. Über ihre eigentliche Funktion, d. h. über die Natur der in den Vakuolen enthaltenen, möglicherweise im Kern gebildeten (Kernsekretion!) Stoffe und deren Angriffspunkt im Organismus kann nichts ausgesagt werden. Es könnte sich um Fermente oder um deren Aktivatoren handeln: doch müßten zur Entscheidung dieser Frage feinste mikrochemische Methoden angewendet werden können.

Zusammenfassung

1. Mit histologischen und histochemischen Methoden werden Golgi-Apparat, Mitochondrien, Kernstruktur, Bildung der Plasmavakuolen, Glykogen, Lipide, Ribonucleinsäure, Desoxyribonucleinsäure, Harnsäure, Vitamin C und einige Fermente in den Oenocyten von *Sialis lutaria* L. untersucht.

2. Aus den Resultaten dieser Untersuchungen sowie aus den Beobachtungen an Oenocyten nach Injektion von fermenthemmenden Stoffen, Glukose und Glukosamin, aus ihren Reaktionen auf Hunger, Nahrungsaufnahme, Blutentnahmen und Implantation von artfremden Geweben sowie aus Blutuntersuchungen vor und nach Koagulation der Oenocyten ergibt sich, daß diese Zellen bei *Sialis lutaria* keine *Erkretspeicher* sind, und daß sie als *Depotorgane* für Glykogen und Lipide nicht in Frage kommen. Dagegen scheinen sie an der *Regulation des inneren Milieus* und am *intermediären Stoffwechsel* beteiligt zu sein.

3. Versuche mit Kopfschnürungen sowie die Oenocytenkoagulationen zeigen, daß eine Beziehung besteht zwischen Corpora allata und Oenocyten, indem die letzteren vermutlich hemmend auf die Corpora allata einwirken, diese dagegen die Oenocyten fördernd beeinflussen.

4. Die Oenocyten zeigen keine Veränderungen, die synchron mit den Larvenhäutungen auftreten. Ihre allfällige Beteiligung am Metamorphosegeschehen konnte nicht geklärt werden.

Literatur

ALBRO, H. T.: A cytological study of the changes in the oenocytes of *Gallerucella nymphaea* L. during the larval and pupal periods of development. J. Morph. Physiol. **50**, 527—568 (1930). — BAKER, J. R.: The histochemical recognition of lipine. The acid-haematein test. The pyridine extraction test. Quart. J. micr. Sci. **87**, 441—470 (1946). — Further remarks on the Golgi-element. Quart. J. micr. Sci. **90**, 63—72 (1949). — Studies near the limit of the light microscope, with special reference to the so-called Golgi-bodies. In: Discussion on mor-

phology and fine structure. Proc. Linnean Soc. Lond. **162**, 67—72 (1950). — BEADLE, J. C., and J. SHAW: Retention of salt and the regulation of the non-protein nitrogen fraction in the blood of the aquatic larva *Sialis lutaria* L. J. exp. Biol. **27**, 96—109 (1950). — BERLESE, A.: Osservazioni su fenomeni che avvengono durante la ninfosi degli insetti metabolici. Parte I. Riv. Pat. Veget. (Firenze) **9** (1899). — Parte II. — Considerazioni sulle fagocitose degli insetti metabolici. Zool. Anz. **23**, 441—449 (1900). — BRACHET, J.: La détection histochimique des acides pentosenucléiques. C. R. Soc. Biol. (Paris) **133**, 99—90 (1940). — DAY, M. F.: The function of the Corpus allatum in Muscoid Diptera. Biol. Bull. **84**, 127—140 (1943). — DENNELL, R., and S. R. A. MALEK: The cuticle of the cockroach *Periplaneta americana*. I. The appearance and the histological structure of the dorsal surface of the abdomen. Proc. roy. Soc. B **143**, 126—135 (1955). — II. The epicuticle. Proc. roy. Soc. B **143**, 239—256 (1955). — III. The hardening of the cuticle: impregnation preparatory to phenolic tanning. Proc. roy. Soc. B **143**, 414—426 (1955). — IV. The hardening of the cuticle: phenolic tanning. Proc. roy. Soc. B **143**, 427—434 (1955). — DU BOIS, A.-M., u. R. GEIGY: Beiträge zur Oekologie, Fortpflanzungsbiologie und Metamorphose von *Sialis lutaria* L. (Studien am Sempacher See). Rev. suisse Zool. **42**, 169—248 (1935). — FALLER, A.: Über mikroskopisch nachweisbaren Austritt von Kerntoffen in das Zellplasma der Epithelzellen des Ductus Epididymis des Menschen. Z. Zellforsch. **33**, 289—298 (1945). — GABE, M.: Sur quelques applications de la coloration par la fuchsine-paraldéhyde. Bull. Micr. appl. **3**, 153—162 (1953). — GEIGY, R.: Beobachtungen über die Metamorphose von *Sialis lutaria* L. Mitt. schweiz. entom. Ges. **18**, 144—157 (1937). — GEIGY, R., u. W. OCHSÉ: Versuche über die inneren Faktoren der Verpuppung bei *Sialis lutaria* L. Rev. suisse Zool. **47**, 225—242 (1940). — GOMORI, G.: Microscopic histochemistry. Principles and practice. Chicago: University Chicago Press 1952. — GROOT, M. DE, A. LAGASSE et M. SEBRUYN: La «sécrétion nucléaire» vue au microscope électronique. Cellule **58**, 57—62 (1956). — HIRSCH, G. CH.: Form- und Stoffwechsel der Golgi-Körper. Protoplasma-Monogr. **18** (1939). — KAISER, P.: Zur Kenntnis der Oenocyten. Histologische Untersuchungen am Großen Kohlweißling. Zool. Anz. **145** (1950). — KOCH, J.: Die Oenocyten der Insekten, mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens in der Metamorphose von *Drosophila melanogaster* Meig. Diplomarbeit Zool. Inst. Zürich (nicht publiziert). — KOSCHEVNIKOV, G.: Über den Fettkörper und die Oenocyten der Honigbiene. Zool. Anz. **23**, 337—353 (1900). — KRAMER, S., and V. B. WIGGLESWORTH: The outer layers of the cuticle in the cockroach *Periplaneta americana* and the function of the oenocytes. Quart. J. micr. Sci. **90**, 63—72 (1949). — OCHSÉ, W.: Experimentelle und histologische Beiträge zur inneren Metamorphose von *Sialis lutaria* L. Rev. suisse Zool. **51**, 1—82 (1944). — Untersuchungen über die Oenocyten von *Sialis lutaria* L. Rev. suisse Zool. **53**, 39—72 (1946a). — Über Vorkommen und Funktion von argyrophilem Bindegewebe bei Insekten. Rev. suisse Zool. **53**, 534—536 (1946a). — ORTMANN, R.: Über Kernsekretion, Kolloid- und Vakuolenbildung in Beziehung zum Nucleinsäuregehalt in Trophoblast-Riesenzellen der menschlichen Placenta. Z. Zellforsch. **34**, 562—583 (1949). — PACHECO, E. O. B., e A. R. CORDEIRO: Observações sobre o aparelho de Golgi em "*Drosophila*". Rev. bras. Biol. **14**, 313—322 (1954). — PFLUGFELDER, O.: Entwicklungsphysiologie der Insekten. Leipzig: Geest & Portig 1952. — RAHM, U.: Die innersekretorische Steuerung der postembryonalen Entwicklung von *Sialis lutaria* L. Rev. suisse Zool. **59**, 173—237 (1952). — RICHTERICH, R.: Der histochemische Nachweis der alkalischen Phosphatase. Acta anat. (Basel) **15**, 243—259 (1952). — ROESSIG, H.: Von welchen Organen der Gallwespen geht der Reiz zur Bildung der Pflanzengalle aus? Zool. Jb., Abt. System., Ökol. u. Geogr. **20**, 19—90 (1904). — ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik, München: Leibniz-Verlag 1948. — VOGT, M.: Fettkörper und Oenocyten der *Drosophila* nach Exstirpation der adulten Ringdrüse. Z. Zellforsch. **34**, 160—164 (1948). — WEISSENBERG, R.: Über die Oenocyten von *Torymus nigricornis* Bok. Mit besonderer Berücksichtigung der Metamorphose. Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog. **23**, 231—268 (1906). — WIELOWIEJSKI, H. v.: Über das Blutgewebe der Insekten. Eine vorläufige Mitteilung. Z. wiss. Zool. **43**, 512—536 (1886). — WIGGLESWORTH, V. B.: The epicuticle in an insect, *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). Proc. roy. Soc. B **134**, 163—181 (1947). — The structure and the deposition of the cuticle in the adult mealworm, *Tenebrio molitor*. Quart. J. micr. Sci. **89**, 197—217 (1948). — The principles of insect physiology. London: Methuen 1953. — WOLFE, L. S.: The deposition of the 3rd instar larval cuticle of *Calliphora erythrocephala*. Quart. J. micr. Sci. **95**, 49—66 (1954).

Dr. MARIANN HUBER, Physiologische Anstalt der Universität, Basel/Schweiz, Vesalianum

Curriculum vitae

Als Tochter des Dr. med. Paul Huber, Augenarzt in Langenthal, und der Elsa, geb. Althaus, wurde ich, Mariann Huber, am 21. November 1930 in Langenthal geboren. Ich bin Bürgerin von Krauchthal (Bern).

In Langenthal besuchte ich die Primar- und Sekundarschule, anschließend drei Jahre lang das Mädchengymnasium in Basel, wo ich im Frühjahr 1949 die Maturität bestand. Darauf wurde ich an der Universität Basel immatrikuliert, wo ich Zoologie als Hauptfach, Botanik, Chemie und physiologische Chemie als Nebenfächer studierte.

Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen und Kurse der folgenden Herren Professoren und Dozenten: Baer, Batschelet, Bernhard, Brenner, Brückner, Erlenmeyer, Geiger-Huber, Geigy, Handschin, Hediger, Huber, Kuhn, Lüscher, Mislin, Nüesch, Portmann, Reichstein, Rothlin, Schüepp, Verzàr, Werthemann.

Die vorliegende Dissertation wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. R. Geigy im Herbst 1953 begonnen, nachdem auf Grund neuerer Arbeiten, vor allem der chemischen Untersuchungen von Butenandt, die Weiterführung einer ersten, anfangs 1952 aufgenommenen Arbeit über die Spezifität des Prothoraxdrüsenhormons der Insekten keinen Erfolg mehr versprach. Die Resultate einer kleineren, zoologischen Vorarbeit wurden mit Herrn Prof. Dr. R. Geigy 1952 in *Acta tropica* publiziert¹.

Im Oktober 1954 und im März 1955 habe ich im Auftrag der Firma F. Hoffmann-La Roche für Herrn Dr. M. Berger, Oberarzt am Frauenspital Bern, dort Tierexperimente über Laktation durchgeführt. Ferner wurde mir von der Eidgenössischen Kommission für die biologischen Stationen von Neapel und Roscoff der Neapler Arbeitsplatz 1955 und 1956 für je sechs Wochen zur Verfügung gestellt. Ich hatte dort Gelegenheit, einige histochemische Versuche über Fermente im Gehirn von Cephalopoden zu machen.

Seit Januar 1957 bin ich in der Physiologischen Anstalt Basel Assistentin von Herrn Prof. Dr. M. Monnier.

¹ Geigy, R., und Huber, M. — Untersuchungen über Bau und Funktion der Stigmen bei verschiedenen *Glossina*-Arten und bei *Stomoxys calcitrans*. — *Acta tropica* **9**, (1952), 233—263.

